

Université de Montpellier II
Ecole Doctorale Biologie des Systèmes
Intégrés – Agronomie- Environnement

Mémoire et notice de travaux présentés par

Jean-Marc Bouvet

Chercheur au CIRAD
Responsable de l'unité de recherche 39 «Diversité génétique et
amélioration des espèces forestières» du département « Systèmes
Biologiques »

Pour l'obtention du diplôme d'Habilitation à Diriger des Recherches

**Expression de la variabilité chez les arbres
forestiers en milieu tropical**

Soutenue le 11 janvier 2007

Membres du jury :

Nathalie Frascaria-Lacoste	MC	ENGREF	Rapporteur
André Gallais	PR	INAPG	Rapporteur
Antoine Kremer	DR	INRA	Examineur
François Lefèvre	DR	INRA	Examineur
Isabelle Olivieri	PR	UMII	Examineur
Rémy Petit	DR	INRA	Rapporteur

Sommaire

CURRICULUM VITAE

PUBLICATIONS : tableau récapitulatif et liste

ENCADREMENT

MEMOIRE : Expression de la variabilité et adaptation des arbres forestiers en milieu tropical

INTRODUCTION

1 – SYNTHÈSE DES RESULTATS SCIENTIFIQUES : EXPRESSION DE LA VARIABILITÉ EN MILIEU TROPICAL

1.1 - Patrons de diversité au sein des aires naturelles : Interaction entre facteurs évolutifs

- 1.1.1 – Variabilité et adaptation locale : cline altitudinal chez *Eucalyptus urophylla*
- 1.1.2 – Effet de la configuration géographique : exemple des santals en milieu insulaire
- 1.1.3 – Facteurs évolutifs et domestication: exemple du karité
- 1.1.4 – Conclusion

1.2 – Expression de la variabilité au cours du développement chez les *Eucalyptus*

- 1.2.1 – Expression des composantes de la variance au cours de la croissance
- 1.2.2 – Compétition inter arbres et expression de la variabilité
- 1.2.3 – Compétition inter arbres et plasticité phénotypique
- 1.2.4 – Approche multi caractères : intégration phénotypique
- 1.2.5 – Synthèse et perspectives

1.3 - Application à la gestion des ressources génétiques

1.4 - Conclusion

2 – PROJET SCIENTIFIQUE : VARIATION ADAPTATIVE SELON LES GRADIENTS ENVIRONNEMENTAUX

2.1 - Adaptation des arbres en zone tropicale : nouveaux enjeux

- 2.1.1 - Enjeux et questions scientifiques
- 2.1.2 - Enjeux liés à la gestion des ressources génétiques

2.2 - Objectifs et stratégie de recherche

2.3 - Questions méthodologiques

- 2.3.1 – Approche expérimentale
- 2.3.2 – Gènes candidats et détection des effets de la sélection

2.4 – Les projets en cours

- 2.4.1 – Adaptation d'*Eucalyptus urophylla* selon un cline altitudinal
- 2.4.2 - Adaptation du Karité : du sahélien au soudano-guinéen

2.5 - Conclusion

CONCLUSION GÉNÉRALE

CURRICULUM VITAE

Nom : BOUVET Jean-Marc

Date de naissance : 12 août 1959

Nationalité : Française

Situation de famille : Marié, 2 enfants

Formation :

Doctorat de l'Institut National Agronomique de Paris-Grignon en ressources génétiques et amélioration des plantes (1995)

DEA Ressources génétiques et Amélioration des plantes, Institut National Agronomique, Université de Paris VI et Paris XI sous la direction du Professeur GALLAIS (1991)

Diplôme d'Ingénieur des Techniques Forestières : ENITEF (Ecole Nationale des Ingénieurs des Travaux des Eaux et Forêts). (1979-1982)

Classes préparatoires aux grandes écoles : mathématique supérieure et spéciale biologie (1977-1979). Lycée Masséna, Nice.

Langues : Français (langue maternelle), Anglais (lu, écrit, parlé)

Champ de recherche

Génétique quantitative, génétique des populations et génétique évolutive liées aux espèces forestières en milieu tropical

Compétence en expertise

Amélioration des plantes
Gestion et conservation des ressources génétiques
Sylviculture des espèces de plantation
Restauration forestière
Montage et coordination de projets intégrés

Expérience professionnelle

- Janvier 2005 : chef de l'Unité Propre de Recherche : « diversité génétique et amélioration des espèces forestières » du Cirad, affecté au Cirad-forêt à Montpellier, France. Animation scientifique, management, montage et coordination de projets, conduite de programme de recherche, encadrements d'étudiants.
- Septembre 2001 - janvier 2005: responsable d'équipe "évaluation, conservation et gestion des ressources génétiques forestières" du programme "arbres et plantations" affecté au Cirad-forêt à Montpellier, France : animation scientifique, montage et coordination de projets, conduite de programme de recherche, encadrements d'étudiants.
- Septembre 1998 – septembre 2001: coordinateur des activités du programme Forêts Naturelles en Guyane et responsable exécutif du Cirad-forêt : animation scientifique, coordination et gestion des activités de recherche, des conventions et correspondant local du Service administratif du Cirad-forêt. Activités de recherche dans le programme du laboratoire de génétique et d'écologie moléculaire de Kourou : impliqué

dans les études des mécanismes de diversité génétique en Forêt amazonienne (de janvier 2000 – septembre 2001 : responsable d'équipe "évaluation, conservation et gestion des ressources génétiques forestières" du programme "arbres et plantations" tout en étant basé en Guyane)

- Novembre 1995 - septembre 1998: Représentant du CIRAD au Congo et même fonction de chercheur à l'URPPI et : valorisation, représentation, promotion et gestion des affaires CIRAD. Impliqués dans les actions du programme « forêts naturelles », montage de projets en aménagement forestier, et dans les activités du Cirad-Fhlor dans le maraîchage autour de Brazzaville.
- Juillet 1991 - novembre 1995: Ingénieur de Recherche au CIRAD-Forêt, Programme Plantation, en poste en république du Congo (Pointe-Noire) à l'Unité de Recherche sur la productivité des plantations industrielles (UR2PI). Responsable du programme d'amélioration génétique de l'Eucalyptus : mise en œuvre de la sélection réciproque, responsable de la production de variétés clonales et responsables des activités de recherche (expression de la variabilité chez eucalyptus au cours de la croissance, effet de la compétition inter arbre sur l'expression de la variabilité)
- Janvier 1986 - juin 1991 : Ingénieur de Recherche au Centre Technique Forestier Tropical, affecté au Département des Recherches Forestières et Piscicoles (DRFP/FOFIFA) à Madagascar :.Responsable du programme d'amélioration génétique des feuillus exotiques (Eucalyptus, Acacia, ...). Mise en place et suivi des essais de provenances. Responsable des recherches sur l'analyse de la variation des caractères adaptatifs et de valeur économique au sein des espèces.
- Mars 1984 - décembre 1985 : Office National des Forêts (France), Chef de la Subdivision de Chantilly - Gestion du patrimoine forestier ; animation d'une équipe (4 techniciens supérieurs, 15 agents techniques)
- Octobre 1982 – mars 1984 : Volontaire du service national en poste en République du Congo au Centre Technique Forestier Tropical. Participation à la mise en œuvre du programme d'amélioration génétique de l'Eucalyptus.

PUBLICATIONS

La liste des publications est donnée en fin de mémoire

Publications à facteur d'impact: tableau récapitulatif

Revue	Facteur d'impact	Nombre 1 ^{er} auteur	co-auteur	Nombre en tant qu'encadrant et dernier auteur	Nombre total
articles acceptés et publiés journaux à facteur d'impact					
Molecular Ecology	4.375			3	3
Theoretical and applied genetics	2.981		2		2
Annals of Botany	2.662	1		1	2
Journal of biogeography	2.329			1	1
Heredity	2.016			1	1
Forest Ecology and Management	1.522		1		1
Canadian Journal of Forest Research	1.446	1			1
Genetic Resources and Crop Evolution	1.461			1	1
Conservation genetics	1.488			1	1
Biodiversity and conservation	1.197			1	1
Molecular Ecology Notes	1.175		1	3	4
Agroforestry Systems	0.707	1		2	3
Silvae Genetica	0.356	3			3
Total					24
articles soumis à journaux à facteurs d'impact					
Conservation Genetics	1.448			1	1
Canadian Journal of Forestry Research	1.446			1	1
Agroforestry systems	0.707			1	1
Total					3

Autres types de publication : tableau récapitulatif

Revue	Facteur d'impact	Nombre 1 ^{er} auteur	co-auteur	Nombre en tant qu'encadrant et dernier auteur	Nombre total
Journaux sans facteurs d'impact					
Bois et Forêts des Tropiques		3			3
South African Forestry Journal		2			2
Le Flamboyant		1			1
Forest Genetic Resources FAO			1		1
Total					7
Chapitres d'ouvrages			3		3
Communications actes de colloques internationaux		9	12		21

PUBLICATIONS JM BOUVET

Les noms des étudiants encadrés sont soulignés

Publications dans revues à facteurs d'impact

- **Articles parus et acceptés**

Lhuillier E, Butaud J-F, Bouvet J-M. Extensive clonality and strong differentiation in the insular Pacific tree *Santalum insulare*: implications for its conservation. (accepté à *Annals of Botany* juillet 2006) (IF=2.262)

Bottin L, Tassin J, Nasi R, **Bouvet J-M**. Molecular, quantitative and abiotic variables for the delineation of evolutionary significant units: case of sandalwood (*Santalum austrocaledonicum* Vieillard) in New Caledonia (accepté à *Conservation Genetics* février 2006) (IF=1.488)

Lhuillier E, Vaillant A, Butaud J-F, **Bouvet J-M**. Isolation and characterization of microsatellite loci in *Santalum insulare*, Santalaceae. (accepté à *Molecular Ecology note*) (IF=1.175)

Muller Félix, Vaillant Alexandre, Ba Amadou And **Bouvet Jean-Marc** Isolation and Characterization of microsatellite markers in *Pterocarpus officinalis* Jacq. *Molecular Ecology note* 6, 462-464. Doi:10.1111/j.1471-8286.2006.01273.x (IF=1.175)

Andrianoelina O, Rakotondraoelina H, Ramamonjisoa L, Maley J, Danthu P, **Bouvet J-M** (2006). Genetic diversity of *Dalbergia monticola* (Fabaceae) an endangered tree species in the fragmented oriental forest of Madagascar: *Biodiversity and Conservation* : DOI 10.1007/s10531-004-2178-6 (IF=1.094)

Sanou H, Picard N, Lovett P N , Dembélé M, Korbo A, Diarisso D, **Bouvet J-M** (2006) Phenotypic variation of agromorphological traits of the shea tree, *Vitellaria paradoxa* C.F Gaertn, in Mali. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 53, 145-161. DOI: 10.1007/s10722-004-1809-9 (IF=1.461)

Bouvet J-M., Vigneron Ph, Saya A (2005). Phenotypic plasticity of growth trajectories and ontogenic allometry in response to density in eucalyptus clones and families. *Annals of Botany*, 96: 811-821. (IF=2.262)

Butaud J-F, Rives F, Verhaegen D, **Bouvet JM** (2005). Distribution of chloroplastic microsatellite diversity in *Santalum insulare* across the South east Pacific archipelagos *Journal of Biogeography* 32, 1763-1774 (IF=2.097)

Bottin L, Vaillant A, Sire P, Cardi C, **Bouvet J-M** (2005). Isolation and characterization of microsatellite loci in *Santalum austrocaledonicum*, Santalaceae *Molecular ecology note* 5, 800-802. (IF=1.175)

Cardi C, Vaillant A, Sanou H, Kelly A B, **Bouvet J-M** (2005). Characterisation of microsatellite markers in the shea tree (*Vitellaria paradoxa* C.F Gaertn) in Mali, *Molecular ecology note Notes* 5, 524-526. (IF=1.175)

Sanou H , Lovett PN, **Bouvet J-M** (2005) : comparison of quantitative and molecular variation in agroforestry populations of the shea tree (*Vitellaria paradoxa* C.F Gaertn) in Mali, *Molecular Ecology*, 14, 2601-2610. (IF=4.375)

Bottin L, Verhaegen D, Tassin J, Olivieri I, Vaillant A, **Bouvet J-M** (2005). Genetic diversity and population structure of an insular tree, *Santalum austrocaledonicum* in New Caledonian archipelago. *Molecular Ecology*, 14, 1979-1989. (IF=4.375)

Fontaine C, Lovett P N, Sanou H, Maley J, **Bouvet J-M** (2004). Genetic diversity of the shea tree (*Vitellaria paradoxa* C.F. Gaertn), detected by RAPD and chloroplast microsatellite markers. *Heredity*, 93, 639-648. (IF=2.016)

Kelly B A, Hardy O, **Bouvet J-M** (2004). Temporal and spatial genetic structure of *Vitellaria paradoxa*

(shea tree) in agroforestry system in southern Mali. *Molecular Ecology*, 13 : 1231-1240. (IF=4.375)

Bouvet J-M, Fontaine C, Sanou H, Cardi C (2004) An analysis of the pattern of genetic variation in *Vitellaria paradoxa* using RAPD markers. *Agroforestry System*, 60 : 61-69. (IF=0.707)

Kelly B A, **Bouvet J-M**, Picard N (2004). Size class distribution and spatial pattern of *Vitellaria paradoxa* in relation to farmers practices in Mali *Agroforestry System*, 60 : 3-11. (IF=0.707)

Sanou H, Kambou S, Teklehaimanot Z, Dembélé M, Yossi H, Sina S, Djingdia L, **Bouvet J-M** (2004). Vegetative propagation of *Vitellaria paradoxa* by grafting . *Agroforestry System* 60, 93-99. (IF=0.707)

Bouvet JM, Vigneron Ph, Saya A, Gouma R (2003). Trends in variances and heritabilities with age for growth traits in eucalyptus spacing experiments. *Silvae gentica*, 52, 3-4, 121-133. (IF=0.356)

Cornillon P.A, Saint André L, **Bouvet JM**, Vigneron Ph, (2002). selecting eucalyptus clones on growth curves using B-splines ; *Forest Ecology and Management*, 176: 75-85. (IF=1.522)

Bouvet J-M (1997). Effect of spacing on juvenile growth and variability of eucalyptus clones. *Canadian Journal of Forestry Research*, 27: 174-179. (IF=1.446)

Baril C, Verhaegen D, Vigneron Ph, **Bouvet J-M**, Kremer A (1997). Structure of the specific combining ability between two species of *Eucalyptus* I. RAPD Data : *Theoretical and Applied Genetics*, 94 : 796-803. (IF=2.981)

Baril C, Verhaegen D, Vigneron Ph, **Bouvet J-M**, Kremer A. (1997). Structure of the specific combining ability between two species of *Eucalyptus* II. A clustering approach and a multiplicative model : *Theoretical and Applied Genetics*, 94 : 804-809. (IF=2.981)

Bouvet J-M, Vigneron Ph (1996). Variance Structure in Eucalyptus Hybrid Populations. In *Silvae Genetica*, 45: 171-177 (IF=0.356 et IF=0.8 en 1996)

Bouvet J-M, Vigneron Ph (1995). Age trends in variances and heritabilities in *Eucalyptus* factorial mating designs. *Silvae genetica* 44: 206-216 : (IF=0.356 en 2004 et IF=0.8 en 1995)

• Articles soumis en 2006

Tripliana V, Bourgeois M, Verhaegen D, Vigneron P, **Bouvet J-M**. Combining microsatellites, growth and adaptive traits for managing *in situ* genetic resources of *Eucalyptus urophylla*. Soumis à Canadian Journal of Forestry Research novembre 2005) (IF=1.446)

Muller F, Voccia M, Ba A, **Bouvet J-M**. Gene flow and phylogeography of a tree species distributed in continental and insular Caribbean zones: case of *Pterocarpus officinalis* Jacq. (soumis à Conservation Genetics juin 2006) (IF=1.448)

Kelly B A, Gourlet-Fleury S, **Bouvet J-M**. Impact of agricultural practises on the flowering phenology of *Vitellaria paradoxa* in parklands in southern Mali (soumis a agroforestry system janvier 2006) (IF=0.707)

Articles dans revue à comité de lecture sans facteur d'impact

Bouvet J-M, Vigneron Ph, Saya A, Gouma R (2004). Early selection of *Eucalyptus* clones at nursery stage using growth, morphological and dry matter criteria. *South African Forestry Journal*, 200, 3-15.

Gouma R, **Bouvet J-M**, Vigneron Ph, Kimbouma N (2001). Ex situ conservation of genetic resources in the Congo: case of two species *Eucalyptus urophylla* and *Eucalyptus grandis*. *Forest Genetics Resources* 28, 13-17.

Bouvet J-M (1999). Les plantations d'Eucalyptus : évolutions récentes et perspectives. *Revue le Flamboyant* n°49 : 4-15.

Bouvet J-M (1995). Sélection précoce de l'eucalyptus au Congo. *Bois et Forêts des Tropiques*, 246 : p23-32

Bouvet J-M (1992). Geno-Phenotypic regression and juvenile-mature correlations : Methodological Tools for clonal selection of Eucalyptus hybrides in Congo. *South African Forestry Journal*, 160, 21-26

Bouvet J-M, Anfrianirina G (1990). L'*Eucalyptus grandis* à Madagascar, potentialités, bilan et orientations des travaux d'amélioration génétique. *Bois et Forêts des Tropiques*, 226, 4ème trimestre 1990

Bouvet J-M, Delwaulle JC (1983). Introduction de l'*Eucalyptus cloeziana* au Congo – parcelle 77-13. *Revue Bois et Forêts des Tropiques*, 200, 7-20.

Publications dans ouvrages

Vigneron Ph, **Bouvet JM** (2000). Tropical plant breeding ; eucalyptus. Collection repère du cirad. Editeurs scientifiques A Charrier, M Jacquot et D Nicolas update made by the authors in 2000. Pp 223-245.

Vigneron Ph et **Bouvet JM** (1997). L'amélioration des plantes tropicales ; Les eucalyptus. Collection repère du cirad. Editeurs scientifiques A Charrier, M Jacquot et D Nicolas. Pp 267-290

Baradat P, Labbe T and **Bouvet J-M** (1995). Conception d'index pour la sélection réciproque récurrente : aspects génétiques, statistique et informatiques. In : traitements des données statistiques des essais de sélection : stratégies d'amélioration des plantes pérennes. Montpellier, France, 101-150.

Communications Congrès

Bottin L, **Bouvet J-M**, Isnard C, Colin G, Tassin J (2005). Chemical variability of sandalwood populations in New Caledonia. Regional workshop on sandalwood research, Development and Extension in the Pacific Island and Asia (Nadi, Fiji, 28 November - 01 December 2005)

Butaud J-F, **Bouvet J-M**, L'Huillier E, Rives F, Verhaegen D (2005). Diversité génétique et phylogéographie du Santal de Polynésie française (*Santalum insulare*) par des études moléculaires portant sur les microsatellites chloroplastiques et nucléaires : définition de provenances génétiques. Regional workshop on sandalwood research, Development and Extension in the Pacific Island and Asia (Nadi, Fiji, 28 November - 01 December 2005)

Bottin L, Verhaegen D, Tassin J, Olivieri I, Vaillant A, **Bouvet J-M** (2005). Molecular markers to assess genetic diversity and population structure of an insular tree *Santalum austrocaledonicum* in New Caledonian archipelago. Plant & Animal Genome XIII Conference January 15-19, 2005, Town & Country Convention Center, San Diego, California USA

Muller F, **Bouvet J-M**, Béna G, Vaillant A, Prin Y, Le Roux C, Rousteau A, Dreyfus B, Bâ A (2005). Molecular markers to assess genetic diversity and structure of *Pterocarpus officinalis* Jack and its associated micro-organisms in the marshy forests Plant & Animal Genome XIII Conference January 15-19, 2005, Town & Country Convention Center, San Diego, California USA

Kelly BA, Gourlet-Fleury S, Picard N, **Bouvet JM** (2004): impact of farmers practices on ecological processes of *Vitellaria paradoxa* (shea tree) in the parkland of southern Mali
IUFRO Division 1 Conference "Meeting the challenge: Silvicultural Research in a Changing World" Montpellier, France June 14-18, 2004

Saya A, Vigneron Ph, **Bouvet J-M**, Cornillon P A, Gouma R (2001). Effect of plot size and spacing on assessment of eucalyptus hybrids. Proceedings of the IUFRO Conference Developing The Eucalypt of the future. Valdivia Chili 10 to 15 september 2001.

Fournier-Djimbi M, Bonjour I, Demay L, Soufflet S, Muller de Moroguez G, Beauch9ene J, **Bouvet JM** (2000). Within species variation of standing tree and wood quality in tropical rainforest (French Guyana). In : Forest and Society : the role of research – Vienne IUFRO

Vigneron P, **Bouvet J-M**, Gouma R, Saya A, Gion J-M, Verhaegen D (2000). Eucalyptus hybrid breeding in Congo. In : Hybrid breeding and genetics of forest trees / QFRI-CRS Symposium, Noosa, Queensland, Australia, 9-14 April 2000 ; Dungey H.S., Nikles D.G., Department of primary Industrie – Brisbane : 14-16

Bouvet J-M, Bouillet J-P, Vigneron P, Ognouabi N (1999). Genetic and environmental effect on growth and wood basic density with two eucalyptus hybrids. In : connexion between sylviculture and wood quality through modelling approaches and simulation softwares. 5 au 12/09/1999. La londe les Maures, France, 2 p.

Verhaegen D, Gion J-M, Plomion C, **Bouvet J-M**, Poitel M (1997). Quantitative trait dissection analysis in *Eucalyptus grandis* using RAPD markers : QTL detection of wood density and stability of QTL expression across different ages. Proceedings du Congrès IUFRO «Conference on Silviculture and Improvement of Eucalypts» 24-29 août 1997, Salvador, Brésil, 149-155.

Combes J-G, **Bouvet J-M**, Baillères H (1997). Analyses of growth, morphological and wood properties traits in ortet populations of eucalyptus in the Congo. Proceedings du Congrès IUFRO «Conference on Silviculture and Improvement of Eucalypts» 24-29 août 1997, Salvador, Brésil, 37-42.

Bouvet J-M, Vigneron Ph (1997). Early selection in the genetic improvement programme of Eucalyptus in the Congo. Proceedings du Congrès IUFRO «Conference on Silviculture and Improvement of Eucalypts» 24-29 août 1997, Salvador Brésil, 132-138.

Bouvet J-M, Vigneron Ph (1996). Effect of spacing on heritability of *Eucalyptus* clone and family populations. Proceedings de la conférence QFRI-IUFRO : Tree Improvement for Sustainable Tropical Forestry :

Bouvet J-M, Vigneron Ph (1996) : Genetic structure of *Eucalyptus urophylla x grandis* population in the reciprocal recurrent selection in the Congo. Proceedings de la conférence QFRI-IUFRO : Tree Improvement for Sustainable Tropical Forestry

Vigneron Ph, Gérard J, **Bouvet J-M** (1995). Relationship between Basic Density and Growth in a Fertilization Trial with clones of *Eucalyptus* hybrids in Congo. Proceedings de la conférence CRCTHF-IUFRO : Eucalypt plantation : improving fibre yield and quality. Hobart, Australia 19-24 février 1995, pp. 68-71

Bouvet J-M, Baillères H (1995). Expression of some Growth and Wood properties Traits Among *Eucalyptus urophylla x grandis* clones in Congo. Proceedings de la conférence CRCTHF-IUFRO : Eucalypt plantation : improving fibre yield and quality. Hobart, Australie 19-24 février 1995, pp. 89-92

Bouvet J-M (1995). Prédiction de la croissance des clones d'Eucalyptus : comparaison de différentes méthodes. In : traitements des données statistiques des essais de sélection : stratégies d'amélioration des plantes pérennes. Montpellier, France, 173-200.

Bouvet J-M (1992) : A new approach for clonal tests in Congo. In Production de variétés génétiquement améliorées d'espèces forestières à croissance rapide: actes du Symposium AFOCEL-IUFRO, Bordeaux, 14-18 septembre 1992, pp. 339-347 :

Bouvet J-M, N. Couteau, Ph. Vigneron (1992): Premiers éléments de l'analyse des plans factoriels du schéma de sélection récurrente réciproque de l'Eucalyptus au Congo. In Production de variétés

génétiqument améliorées d'espèces forestières à croissance rapide : actes du Symposium AFOCEL-IUFRO, Bordeaux, 14-18 septembre 1992, pp. 317-326

Bouvet J-M (1991). Geno-Phenotypic regression and juvenile-mature correlations : Methodological Tools for clonal selection of Eucalyptus hybrides in Congo. South African Forestry Journal n°160, March 1992. Paper presented at the IUFRO Symposium "Intensive Forestry : the role of Eucalypts", held in Durban, South Africa, in September 1991

Rasamimanana A, **Bouvet J-M**, Rakotovo Z (1988). Essais de provenances de Eucalyptus grandis à Madagascar. Résultats à l'âge de 14 ans. Communication présentée à la réunion IUFRO de Pattaya (Thaïlande) :

Rasamimanana A, **Bouvet J-M**, Rakotovo Z (1988). Essais de provenances de Pinus kesiya n° 11/74 à Madagascar. Résultats à l'âge de 14 ans. Communication présentée à la réunion IUFRO de Pattaya (Thaïlande) :

Mémoire

JM Bouvet (1995). Evolution de la variabilité avec l'âge et corrélation juvénile-adulte dans les populations d'eucalyptus. Thèse de doctorat INAPG. 296 p

J.M. Bouvet (1991). Analyse des tests clonaux d'Eucalyptus hybrides. Réflexions sur la méthodologie de sélection. Mémoire de DEA Ressources génétiques et amélioration des plantes, Institut National Agronomique Paris-Grignon, 30 septembre 1991 :

J.M. Bouvet (1982). Pollinisation contrôlée des Eucalyptus et production d'hybrides en République Populaire du Congo : Mémoire de 3ème année ENITEF

ACTIVITES D'ENCADREMENT D'ETUDIANTS

Etudiants de licence et maîtrise (Master I)

R. Rakotomamonjy (1987). Bouturage de *Eucalyptus grandis* et *E. robusta*. Résultats de la campagne 1986-87 : mémoire de diplôme d'ingénieur de l'ESSA de l'université de Madagascar. 45 P

Rasamimanana, (1988). Essais de provenances de *Pinus kesiya* n° 11/74 à Madagascar. Résultats à l'âge de 14 ans. Communication présentée à la réunion IUFRO de Pattaya (Thaïlande)

El Hannah C., 1997 : Effet du vieillissement des parcs multiplicatifs sur la performance et la variabilité génétique intra clonale d'Eucalyptus au Congo : Mémoire Mastères en Sciences Forestières de l'ENGREF. 57 pages

Delphin Mapaga 1998 : Analyse phytosociologiques de la Forêt de Counami sur la base de l'inventaire Mémoire Mastères en Sciences Forestières de l'ENGREF. 57 pages

David Marcon 2002 (stage de maîtrise BEE de l'UMII) Analyse de la diversité de *Santalum austrocaledonicum* par marqueurs chloroplastiques et caractères quantitatifs

Cyril Castillon 2002 (stage de maîtrise BEE de l'UMII) Analyse de la diversité de *Santalum insulare* par marqueurs chloroplastiques et caractères quantitatifs

Annabelle Aubry 2003 (stage de maîtrise BEE de l'UMII) Analyse de la diversité de *Santalum insulare* par marqueurs chloroplastiques. .En thèse à l'UMII et INRA.

Aurore Martinez 2003 (stage de maîtrise BEE de l'UMII) Analyse de la diversité de *Santalum austrocaledonicum* par marqueurs chloroplastiques

Pierre Sire 2003 (stage de licence biotechnologie de Toulouse): mise au point de microsatellites nucléaires et analyse de la diversité chez *Santalum austrocaledonicum*

Marie Voccia 2004 (stage d'entrée en maîtrise de l'université de Nancy) : analyse de la diversité du *Pterocarpus officinalis* Actuellement en Formation des Ingénieurs Forestiers (FIF) à Nancy

François Allal : 2006 - Stage de Master I : Biotraçabilité et Biodiversité à l'Université des Sciences de Montpellier (UM2). Estimation de l'héritabilité selon la méthode de Ritland : application à une population de *Vittelaria Paradoxa* en milieu agroforestier.

Philippe Nunez : 2006 stage de Master I en Bio-Informatique à l'Université des Sciences de Montpellier (UM2). Mise au point des marqueurs microsatellites et analyse de la diversité de *dalbergia Monticola* à Madagascar.

Frank Coudray : 2006 Stage de Master I « Ingénierie en Ecologie et Gestion de la Biodiversité ». à l'Université des Sciences de Montpellier (UM2). Note technique pour la gestion du Santal en Nouvelle Calédonie. Intégration des données pour la définition de zone de gestion.

Etudiants de DEA, DESS et Master 2

1989 : Encadrement de Lolona Ranaivoson. DEA en écologie végétale forestière de l'Université d'Antananarivo. Madagascar sujet : analyse des tests de provenances d'*Eucalyptus grandis* à Madagascar. Cadre au Silo National des Graines Forestières à Madagascar

1992 : Co-encadrement d'Agnès Doligez. DEA ressources génétiques et amélioration des plantes de l'INAPG

sujet : Analyse des composantes de la variance génétique dans des populations d'hybrides interspécifiques d'*Eucalyptus*.

Actuellement CR2 à l'INRA

2001 : Co-encadrement de Cédric Etienne : étudiant DEA de Ressources Phytogénétiques et Interactions biologiques Ecole Doctorale Biologie Intégrative Université de Montpellier II.

sujet : Contribution à la méthodologie de conservation d'une espèce forestière menacée, *Aniba rosaeodora* DUCKE.

2002 : encadrement d'Andrianoelina Andrianaivo Olivarimbola : DEA de l'ESSA forêt de l'université de d'Antananarivo

sujet : «Contribution à la gestion des ressources génétiques de *Dalbergia baronii* et *Dalbergia monticola* à Madagascar» Analyse de la structuration de la diversité génétique d'une espèce de palissandre sur la base de marqueurs moléculaires.

(1 publication acceptée à Biodiversity Conservation)

Actuellement en thèse à l'Université d'Antananarivo

2002 : encadrement de Christelle Fontaine : DESS «gestion de la biodiversité : méthodologies d'études et de valorisation des ressources génétiques » de l'Université Pierre et Marie Curie Paris VI

sujet : Structuration de la diversité génétique d'une espèce agroforestière en zone soudano-sahélienne le karité (*Vitellaria paradoxa*).

(1 publication acceptée Heredity)

2004 : encadrement de Fanny Rives : DESS «gestion de la biodiversité : méthodologies d'études et de valorisation des ressources génétiques » de l'Université Pierre et Marie Curie Paris VI.

sujet : Analyse de la diversité d'une espèce menacée *Santalum insulare* par marqueurs microsatellites chloroplastiques et caractères quantitatifs.

(1 publication acceptée à Journal of Biogeography)

Actuellement en mastère de l'ENGREF

2005 : encadrement d'Emeline Lhuiller : Master II «gestion de la biodiversité : méthodologies d'études et de valorisation des ressources génétiques » de l'Université Pierre et Marie Curie Paris VI

sujet : Analyse de la diversité inter et intra population d'une espèce menacée *Santalum insulare*.

(1 publication acceptée à Molecular Ecology Notes, 1 publication soumise à Annals of Botany)

En préparation pour un poste de VAT en Nouvelle-Calédonie dans le cadre des activités de l'UPR

2005 : co-encadrement de Vincent Tripiana : Etudiant en DEA Ressources Phytogénétiques et Interaction de l'Université de Montpellier II.

Sujet : Diversité neutre et sélection chez les populations d'*Eucalyptus urophylla* dans l'archipel des Iles de la sonde.

(1 publication soumise à Canadian Journal of Forestry Research)

Encadrement de doctorants d'universités étrangères

Co-publication et fonction actuelle

1 - Co-encadrant de Lolona Ranaivoson 1991-1993 :. Thèse de doctorat de l'Université d'Antananarivo

Sujet : *Eucalyptus robusta* SM : Etude de l'amélioration génétique à Madagascar. Thèse de doctorat de l'Université de Madagascar. 213 P.

Actuellement cadre au Silo National des Graines Forestières de Madagascar

2 - Co-directeur de thèse de Bokary Kelly, chercheur malien de l'Institut d'Economie Rurale, 2001-2005. Thèse de 3^{ème} cycle de l'Université du Mali (Directeur de thèse Professeur A Cissé).

Sujet : Dynamique du karité dans les systèmes agroforestiers : approche génétique et démographique

(2 publications acceptées : Agroforestry system et Molecular Ecology, une soumise à Agroforestry system)

Actuellement chercheur à l'Institut d'Economie Rurale du Mali

3 - Co-directeur de thèse d'Etat d'Haby Sanou chercheuse Malienne de l'Institut d'Economie Rurale du Mali.

Démarrage en 2003-. Thèse d'Etat de l'Université d'Abidjan

Sujet : approche moléculaire et phénotypique de la diversité de *Vitellaria Paradoxa* en zone Soudano-Sahélienne.

(4 publications acceptées : 1 à Genetic Resources and Crop Evolution, 2 à Agroforestry System, 1 à Molecular Ecology)

Actuellement chercheuse à l'Institut d'Economie Rurale du Mali

4 - Co-encadrement de la thèse de Hery Rakotondraoelina

Démarrage en 2005. Université d'Antananarivo Madagascar

Directeur de thèse non encore identifié

Dynamique de la diversité génétique au sein des populations de *Ravensara aromatica* par l'analyse des flux de gènes et de sa structure spatio-temporelle

5 - Co-encadrement de la thèse de Andrianoelina Liva

Démarrage en 2005. Université d'Antananarivo Madagascar

Directeur de thèse non encore identifié

Ecologie de la reproduction et dynamique de la diversité à échelle locale de *Dalbergia monticola* en zone de forêt orientale de Madagascar

Encadrement de doctorants d'universités françaises

Co-publication et fonction actuelle

1 - Co-directeur de thèse de Lorraine Bottin (ENSAM) sur santal en 2002-2005. (Directeur de thèse JC Glazsmann). Ecole doctorale biologie Intégrative de l'UMII.

Sujet : Analyse de la diversité inter et intra spécifique selon différentes échelles spatio-temporelles par marqueurs moléculaires, caractères adaptatifs et d'intérêt économique chez *Santalum austrocaledonicum*

(1 publication acceptée à Molecular Ecology, 1 acceptée à Molecular Ecology note, 1 acceptée à Conservation Genetics, 1 en préparation)

Actuellement en recherche de post doc.

2 - Co-encadrant de thèse de Félix Muller sur *Pterocarpus officinalis* 2003-2006 (Directeur de thèse A Ba, Université Antilles Guyane). Thèse de l'Université Antille Guyane.

Sujet : Caractérisation de la diversité génétique et fonctionnelle de *Pterocarpus officinalis* Jack. et de ses microorganismes associés dans des forêts marécageuses de Guadeloupe

(1 publication acceptée à Molecular Ecology notes et une soumise à Conservation Genetics)

3 - Co-encadrant de la thèse de Jean-François Butaud (UPF) 2002-2005 (directeur de thèse Phila Bianchini, Université de Polynésie Française).

Sujet : Caractérisation chimique du bois de santal (*Santalum insulare*) de Polynésie française. Analyse des déterminants phytoécologiques et génétiques de la variation des chimiotypes au sein de l'espèce

(1 publication acceptée à Journal of Biogeography, 1 publication acceptée à Molecular Ecology note et une en cours de soumission à Annals of Botany, 1 en préparation)

Actuellement consultant en Polynésie Française

Expression de la variabilité et adaptation des arbres forestiers en milieu tropical

INTRODUCTION

L'exploration de la variabilité au sein des espèces forestières, pour comprendre l'expression et la dynamique de la diversité génétique et répondre aux enjeux de développement (création variétale, conservation de la biodiversité), est relativement récente. Les premiers programmes de recherche sont apparus au milieu du 20^{ème} siècle pour les espèces des régions tempérées et ont pris un réel essor dans les années soixante dix (Zobel et Talbert, 1984). Au cours des trente dernières années deux grands domaines ont été abordés :

- l'analyse des facteurs évolutifs et de leur interaction par des approches couplant diversité neutre et sélectionnée,
- l'expression de la variabilité au cours du développement de l'arbre par application des modèles de génétique quantitative.

Le premier domaine a été exploré l'étude de la variabilité d'origine adaptative en testant des provenances d'espèces utilisées en plantation. Suite à ces premières approches très descriptives, les études ont cherché à caractériser les facteurs biotiques et abiotiques responsables de cette variation en croisant origines (provenances) et conditions environnementales (pluviométrie, température, conditions édaphiques etc...). Un bon exemple de cette démarche est donné pour l'adaptation au froid des gymnospermes de la zone tempérée (Howe *et al.*, 2003).

L'effet environnemental et donc la sélection naturelle peuvent être confondus avec d'autres facteurs évolutifs : isolements anciens ou récents, effet de dérive, goulot démographique, migration. Les outils de la biologie moléculaire, notamment les marqueurs dits « neutres » ont permis de retracer les processus démographiques d'origine historique (Petit *et al.*, 2002a et b) et de distinguer plus précisément les effets de la sélection naturelle des autres forces évolutives en association avec des caractères adaptatifs (Le Corre et Kremer, 2003 ; Latta, 2003). Les concepts d'écologie fonctionnelle et évolutive (tels que la plasticité et l'intégration phénotypique) sont aujourd'hui intégrés aux questions de recherche et de nouvelles approches (génomique) doivent faire évoluer la génétique des espèces forestières (Bhalerao *et al.*, 2005).

Pour le second domaine, une forte dynamique de recherches est aussi à souligner. Les arbres se particularisent par le fonctionnement de méristèmes sur de longues périodes, plusieurs dizaines d'années voire plusieurs siècles. Cette spécificité a suscité d'abondants travaux, de l'expression des composantes de la variance à l'architecture des caractères complexes. Les modèles de génétique quantitative ont d'abord permis d'estimer la variabilité d'origine génétique et environnementale des caractères de valeur adaptative : quelle est la part des effets additifs et non additifs des gènes, quel est le niveau d'héritabilité des caractères, comment s'expriment les corrélations entre caractères, sont les questions classiques (Franklin, 1979). L'association du quantitatif et du moléculaire a permis d'aborder l'architecture des caractères complexes. La mise en évidence des QTLs au sein de pedigree a amélioré la compréhension de l'action des gènes dans l'expression d'un caractère. Les travaux sur les pins et les peupliers donnent une vue complète des recherches sur ces questions (Sewell et Neale, 2000).

Mon activité de recherche s'intègre dans ces deux grands domaines. Compte tenu de la variété

des espèces, des contextes géographiques, écologiques et sociétaux qui ont jalonné mon parcours, et donc des questions et objets de recherches que j'ai abordés, j'ai illustré les résultats de mes travaux selon quatre problématiques.

(i) *La relation entre les gradients environnementaux et la diversité génétique* ; que la variation soit continue, suivant un gradient environnemental (cline) (Huxley, 1938; Turesson, 1922 cités par Zobel et Talbert, 1984) ou écotypique, avec des variations très tranchées entre les populations d'arbres aboutissant à la création de races ou écotypes (Baradat, 1986), l'impact du facteur environnemental est généralement très marqué sur la variation morphologique, adaptative et de propriété du bois (Zobel et Talbert, 1984). Nous avons abordé ce type d'étude en couplant variation phénotypique et diversité moléculaire pour comprendre comment les flux de gènes et les facteurs abiotiques façonnaient la variabilité. Nous illustrerons nos résultats avec *Eucalyptus urophylla* distribué sur un cline altitudinal très marqué (de 200 à 3000 m). Quelle est la relation entre l'origine écologique, la performance et l'adaptation des populations, comment se structure la variabilité au sein et entre les populations, les flux de gènes masquent-ils les effets d'adaptation locale, sont parmi les questions que nous avons abordées pour plusieurs espèces mais que nous illustrerons avec cet eucalyptus.

(ii) *L'impact des configurations géographiques sur la diversité intra spécifique, le cas des milieux insulaires* : La diversité au sein des espèces forestières distribuées dans les milieux insulaires reste peu abordée. Ces milieux se caractérisent par un endémisme élevé et pour certaines îles par une forte biodiversité. Souvent cités comme des laboratoires évolutifs, ils ont permis de mieux cerner les processus de colonisation et de vicariance, de fragmentation des aires, de spéciation, d'évolution des traits d'histoire de vie etc. (Barrett, 1998). Leur isolement et leur écosystème exacerbent les processus évolutifs et permettent de mieux appréhender les interactions entre migration, hasard et sélection naturelle. Ils sont aussi très fragiles et peu résistants aux espèces envahissantes. Ils sont en fait représentatifs de la dégradation de la biodiversité par l'activité humaine. Aux questions touchant l'évolution, des questions sociétales de conservation d'espèces menacées, de restauration écologique, d'éradication d'espèces envahissantes sont d'actualité dans ces milieux. Nous avons abordé les aspects d'insularité et de diversité avec les espèces du genre *Santalum* distribuées dans l'archipel de Nouvelle-Calédonie (*S. austrocaledonicum*) et de Polynésie Française (*S. insulare*). Quel est le niveau de différenciation en fonction de l'éloignement des îles, quel est l'impact des facteurs évolutifs sur la variabilité des caractères liés à l'adaptation, les patrons de diversité au sein des populations varient-ils selon les îles, sont parmi les questions que nous avons adressées.

(iii) *La relation entre facteurs évolutifs et domestication* : dans la majorité des milieux, l'activité humaine a fortement marqué la diversité au sein des espèces forestières (exploitation, agriculture, transport de semences). L'interaction la plus marquante relève du processus de domestication. Celui-ci reste cependant peu avancé par rapport aux espèces de grande culture mis à part certains fruitiers. La très grande majorité des espèces productrices de bois du milieu tropical est encore "sauvage". Les stratégies d'amélioration mises en place pour certains genres ont cependant créé un compartiment cultivé et sauvage : les peupliers, dont le processus de sélection remonte à 3 siècles selon Lefèvre (2002), en sont un exemple. Aux rares espèces impliquées dans les stratégies d'amélioration et de création variétale, s'ajoutent quelques espèces intégrées dans les systèmes de culture subissant depuis des siècles un processus de domestication interagissant avec les autres facteurs évolutifs, par exemple les châtaigniers ou les noyers en Europe. Dans le monde tropical, il semble que certaines espèces

multi-usages (production de bois, fruits) aient subi un processus de domestication depuis plusieurs siècles, notamment celles intégrées dans les systèmes agrofrestiers.

Comment le supposé processus de domestication a-t-il façonné la diversité génétique au sein des espèces ? Quels traits ont pu réellement évoluer après sélection par l'homme ? De quelle façon le processus de domestication interagit-il avec les autres facteurs évolutifs ? Nous avons abordé ces questions au travers des études menées sur une espèce de la zone soudano-sahélienne, le karité.

(iv) L'expression de la variabilité au cours du développement

Nous avons plus particulièrement abordé ces questions avec le genre *Eucalyptus*, dont les espèces tropicales par leur rapidité de croissance permettent d'atteindre des résultats après quelques années de suivi. Intégrés dans un schéma d'amélioration, plusieurs plans de croisements et des expérimentations de terrain relativement robustes ont permis d'estimer des composantes de la variance au cours du développement avec des erreurs minimisées. Les études se sont plus particulièrement penchées sur l'effet de la compétition sur l'expression de la variabilité (la compétition étant provoquée par une augmentation de la densité d'individus à l'hectare). Les analyses de l'interaction génotype*environnement nous ont permis d'aborder les questions d'écologie fonctionnelle par les notions de plasticité et d'intégration phénotypique. L'expression de la variance est-elle marquée par des phases au cours du développement de l'arbre, la compétition affecte-t-elle l'expression de la variabilité, la plasticité est-elle sous déterminisme génétique, donnent un aperçu des questions que nous avons abordées.

La première partie du mémoire présente le bilan des activités en se référant à ces quatre problématiques. A travers quatre espèces très contrastées sur le plan taxonomique et écologique, nous évoquerons les résultats concernant l'adaptation, la phylogéographie des milieux insulaires et la domestication. Nous développerons, avec le genre *Eucalyptus*, l'expression de la variabilité au cours de la croissance, la plasticité phénotypique avec une approche multicaractère.

Notre projet de recherche résulte des travaux menés au cours des vingt dernières années. Il se concentre sur les mécanismes d'adaptation locale selon les gradients environnementaux. Il aborde de nouveaux enjeux scientifiques et analyse les aspects méthodologiques que nous souhaitons développer en associant variation phénotypique et polymorphisme de gènes candidats. Nous illustrons notre objectif par la présentation de deux projets en cours de démarrage.

1 – SYNTHÈSE DES RESULTATS SCIENTIFIQUES

1.1 – Patrons de diversité au sein des aires naturelles : Interaction entre facteurs évolutifs

Quelle que soit la problématique, (gradient environnemental, milieux insulaire et domestication) nous avons associé plusieurs mesures de la diversité pour comprendre la façon dont les facteurs évolutifs interagissent : les caractères phénotypiques liés à la valeur sélective (il s'agit en fait de caractères sylvicoles tels que la croissance, la morphologie et les propriétés du bois) et les marqueurs moléculaires dit "neutres".

Notre méthodologie s'est appuyée sur l'expérimentation en milieu contrôlée et l'échantillonnage *in situ*.

De façon générale, notre démarche a cherché à répondre aux questions suivantes:

- De quelle façon se structure la variabilité neutre et sélectionnée, au sein et entre les populations?
- Quels sont les déterminants biotiques et abiotiques de cette variabilité ?
- Quelle est la part des effets génétiques et environnementaux dans l'expression des caractères adaptatifs?
- De quelle façon interagissent la sélection naturelle, la dérive génétique et la migration au sein des aires naturelles?

1.1.1 – Variabilité et adaptation locale : cline altitudinal chez *Eucalyptus urophylla*

L'hétérogénéité environnementale a conduit les plantes à évoluer pour mieux s'adapter et optimiser leur «fitness». Les effets environnementaux semblent occuper une part prépondérante dans les déterminants de la variation au sein des espèces (Nevo, 2001). Ce principe s'applique aussi aux arbres qui sont souvent distribués sur de vastes aires où s'expriment d'importantes variations climatiques et édaphiques (Abrams, 1994).

Parmi les gradients environnementaux, ceux liés à l'altitude sont les plus marquants sans doute parce qu'ils évoluent rapidement sur des distances relativement courtes. Qu'il s'agisse d'espèces de milieux tempérés ou d'espèces tropicales les variations altitudinales entraînent des changements marqués sur le plan morphologique et physiologique (Oleksyn *et al.*, 1998 ; Cordell *et al.*, 1999 ; Hultine et Marshall, 2000 ; Qiang *et al.*, 2003 ; Li *et al.*, 2004 ; Li *et al.*, 2005). Par exemple, les individus d'altitude se caractérisent par une taille plus petite, des feuilles plus épaisses et pubescentes, des densités de stomates plus élevées. Sur le plan physiologique on observe une plus grande concentration en azote dans les feuilles, un taux de respiration nocturne plus fort, une capacité de stockage de l'eau plus élevée et un δC_{13} des feuilles plus important (Cordell *et al.*, 1999). La variation altitudinale correspond à celle de nombreux facteurs abiotiques. Par exemple, la variation du δC_{13} est corrélée à celle de l'humidité dans le sol, de la pression en CO_2 atmosphérique, de la pression atmosphérique (Hultine et Marshall, 2000). Ces réponses aux variations environnementales peuvent résulter d'évolutions réversibles induites par l'environnement ou de variation génétique spécifique à ces populations (Cordell *et al.*, 1998). La contribution de l'effet génétique et environnemental

est traitée selon des dispositifs d'interaction génotype*environnement (Joshi *et al.*, 2001) et permet de séparer ces effets. D'autres facteurs évolutifs rentrent en ligne de compte pour expliquer la variation en peuplements naturels ; les effets du hasard et les taux de migration façonnent la diversité et doivent être pris en compte pour comprendre la structure de la diversité.

Nos premières analyses sur les relations entre gradients environnementaux et diversité ont porté sur les eucalyptus. Ces espèces ont montré généralement une forte variabilité pour les caractères de croissance et d'adaptation (Bouvet, 1982 ; Bouvet, 1983 ; Bouvet et Delwaulle, 1983 ; Bouvet, 1988 ; Bouvet *et al.*, 1988 ; Bouvet et Andrianirina, 1990). Très descriptives dans une première approche, nos recherches n'ont pas abordé l'origine de cette variabilité. Afin d'approfondir notre compréhension des déterminants de la variation et de distinguer l'impact des facteurs évolutifs, nous avons poursuivi nos analyses en associant caractères liés à l'adaptation et marqueurs moléculaires.

Parmi ces espèces, *E. urophylla* est distribué dans l'archipel des îles de la sonde (Indonésie et Timor Leste, Figure 1a), selon un gradient altitudinal marqué (de 200 à 3000 m). Cette espèce présente des arbres pouvant atteindre 30 à 40 m de hauteur pour 1 m de diamètre, que l'on peut trouver en peuplements presque purs dans l'aire naturelle. Ses fruits sont des capsules dont les graines, de très petites tailles (0.5 à 1mm de diamètre), sont dispersées par le vent et par gravité. Les fleurs sont pollinisées par les insectes et les oiseaux. Il s'agit d'un des rares eucalyptus adapté aux tropiques humides. Il sert de matériel de base à de nombreux programmes d'amélioration génétique mis en oeuvre dans ces régions.

La distribution de cette espèce nous a conduit à aborder trois principales questions :

- la fragmentation de l'aire naturelle (système insulaire et distribution géographique des populations) a-t-elle engendré une forte structuration de la diversité génétique par effet de dérive et limitation de flux de gènes ?
- le fort gradient altitudinal a-t-il induit une différenciation des populations pour les caractères adaptatifs ?
- Quelle est la part des effets génétiques et environnementaux dans l'expression de la variabilité des caractères liés à l'adaptation ?

Ces questions ont été abordées par une méthodologie combinant des essais de provenances/descendances installés en République du Congo et des analyses moléculaires par marqueurs microsatellites.

■ **Diversité neutre et sélectionnée**

Nous donnons les principaux résultats obtenus par marqueurs microsatellites (Tableau 1). La variabilité intra population (H_e) est importante, mais l'équilibre de Hardy-Weinberg n'est pas respecté au sein des populations. Ce résultat peut s'expliquer par un taux d'autofécondation non nul (phénomène observé chez les *Eucalyptus* amplifié dans notre cas par la mesure sur de jeunes semis n'ayant subi aucune pression de sélection durant le jeune âge) ou par la présence de sous-populations provoquant un effet Wahlund. Cette espèce ne montre pas de structure de la diversité génétique malgré une distribution en milieu insulaire ($F_{st} = 0.04$) (Figure 1b). Ce résultat-ci consiste en fait en des îles faiblement éloignées qui, compte tenu de la profondeur des fonds marins actuels, devaient être connectées en partie entre elles lors des dernières glaciations (Cannon and Manos 2003) ce qui pourrait expliquer en partie cette faible différenciation. De plus, les flux de gènes par pollen sont aussi très efficaces chez les eucalyptus pollinisés par les insectes aussi par les oiseaux et les chauves souris sachant que ces derniers sont des vecteurs très efficaces sur de longues distances (House 1997).

Tableau 1 : Expression de la diversité génétique et de la structuration sur la base de marqueurs neutres estimés chez *E. urophylla*.

Espèces	Zone géographique	Nbre de populations	Type de marqueur	Diversité H_e	Index de fixation F_{is}	Index de structuration F_{st}	référence
<i>Eucalyptus urophylla</i>	Indonésie Iles de la sonde aire naturelle distribuée dans un archipel	13 réparties sur l'ensemble de l'aire	Microsatellite nucléaire	0.60 – 0.80	0.10 – 0.33	0.04	Tripiana <i>et al</i> soumis

La variation à l'intérieur des populations est prépondérante pour les caractères de croissance et l'héritabilité au sens strict au niveau individuel montre des valeurs élevées attestant de la forte variabilité des effets additifs au sein des populations encore "sauvages" (Tableau 2). Cette espèce distribuée selon un gradient altitudinal montre une relation entre l'altitude des populations d'origine et les performances au niveau de la mer dans les conditions du Congo. La relation semble très nette malgré une distribution dans un milieu insulaire où des ruptures de flux de gènes sont attendues (Figure 1c).

Tableau 2 : Exemple de décomposition de la variance entre et au sein des populations, héritabilité intra population pour *E. urophylla*

σ_p^2 : variance inter populations, σ_{wp}^2 : variance intra population, σ_A^2 : variance additive ($4\sigma_f^2$), σ_f^2 : variance entre familles de demi frères

espèce	caractères	Partition de la variance $R_p = \sigma_p^2 / (\sigma_p^2 + \sigma_{wp}^2)$	Héritabilité au sens strict $H^2 = \sigma_A^2 / (\sigma_f^2 + \sigma_{wf}^2)$	observations	référence
<i>Eucalyptus urophylla</i>	hauteur (37 mois) circonférence mortalité	0.43 0.34 0.14	0.36 0.21	17 provenances 308 descendances	Tripiana <i>et al.</i> soumis

▪ Différenciation neutre et sélectionnée

Nous avons analysé conjointement la diversité neutre par marqueurs microsatellites et la diversité de caractères adaptatifs (croissance). La méthodologie classique, moyennant certaines hypothèses comme la prépondérance de la variance additive, a consisté à comparer l'indice de Wright (F_{st}) avec l'indice Q_{st} , équivalent du (F_{st}) pour les caractères quantitatifs (McKay et Latta, 2002). Les principaux résultats sont donnés dans le tableau 3. Ils soulignent que malgré une faible différenciation des populations sur les marqueurs moléculaires (faibles F_{st}), suggérant un flux de gènes efficace, la différenciation sur les caractères adaptatifs est en moyenne 5 fois plus importante (Q_{st} élevé) soulignant un fort effet de la sélection naturelle. Cette apparente contradiction peut être expliquée par les effets du déséquilibre de liaison entre loci codant pour des gènes adaptés localement. Latta (2003) a montré par simulation que la covariance entre les fréquences alléliques augmentent lorsque les caractères évoluent vers des optimum locaux. Ceci expliquerait que chez les espèces avec un fort flux de gènes, la divergence pour les caractères polygéniques est probablement due à la covariance entre fréquences allélique plutôt qu'à d'importants F_{st} de chaque locus impliqué dans le caractère quantitatif.

Figure 1 : illustration de la distribution des provenances d'*E.urophylla* dans les îles de la sonde en Indonésie et Timor Leste et de la relation entre croissance en hauteur en zone de basse altitude (en République du Congo) et l'altitude des provenances.

a : distribution des provenances au sein de l'aire naturelle

b : arbre selon la méthode "neighbour Joining" montrant la faible différenciation entre les populations sur la base des marqueurs microsatellites

c : relation entre performance en République du Congo et altitude de la zone d'origine pour les caractères de croissance et le taux de survie

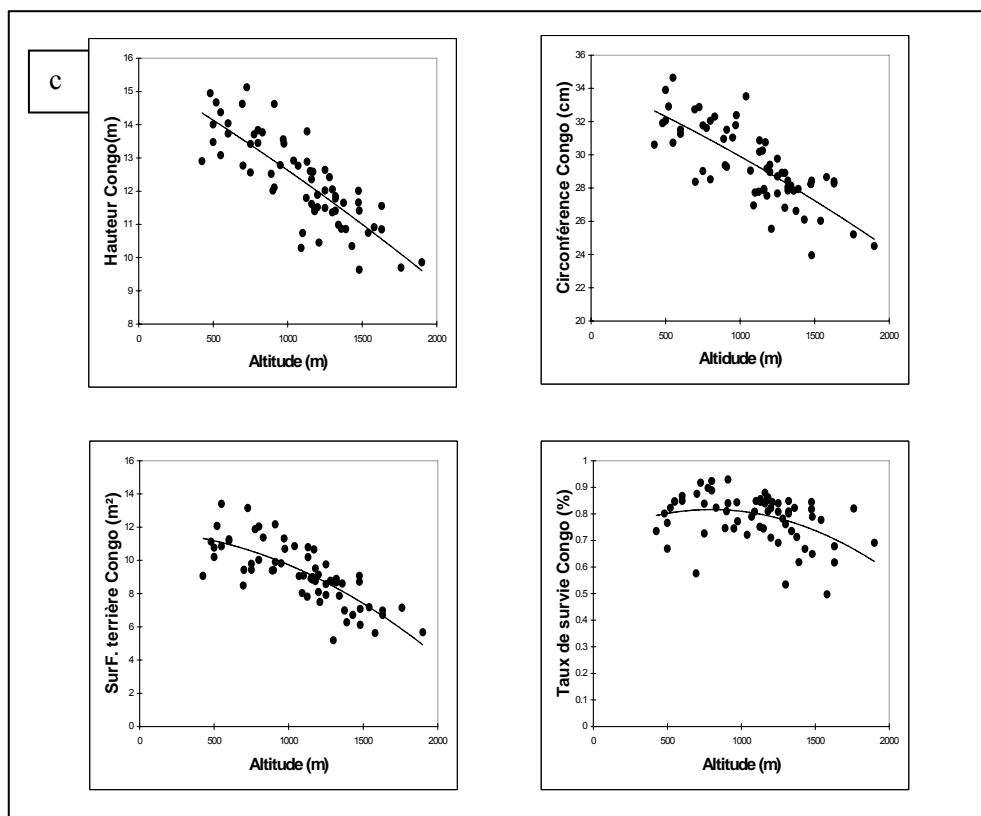
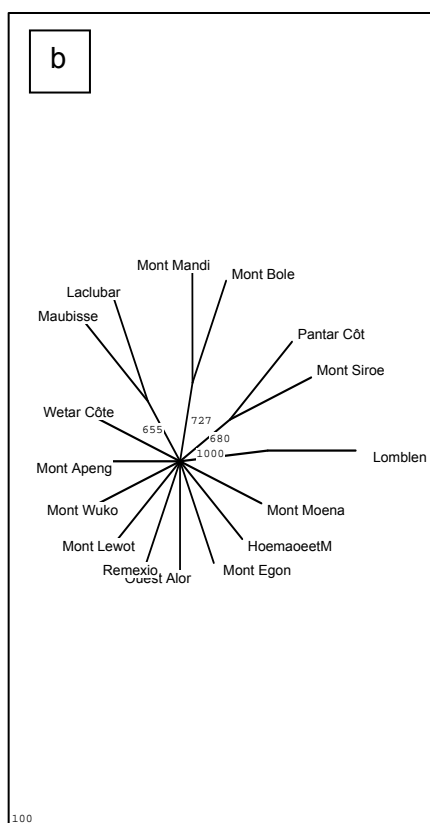
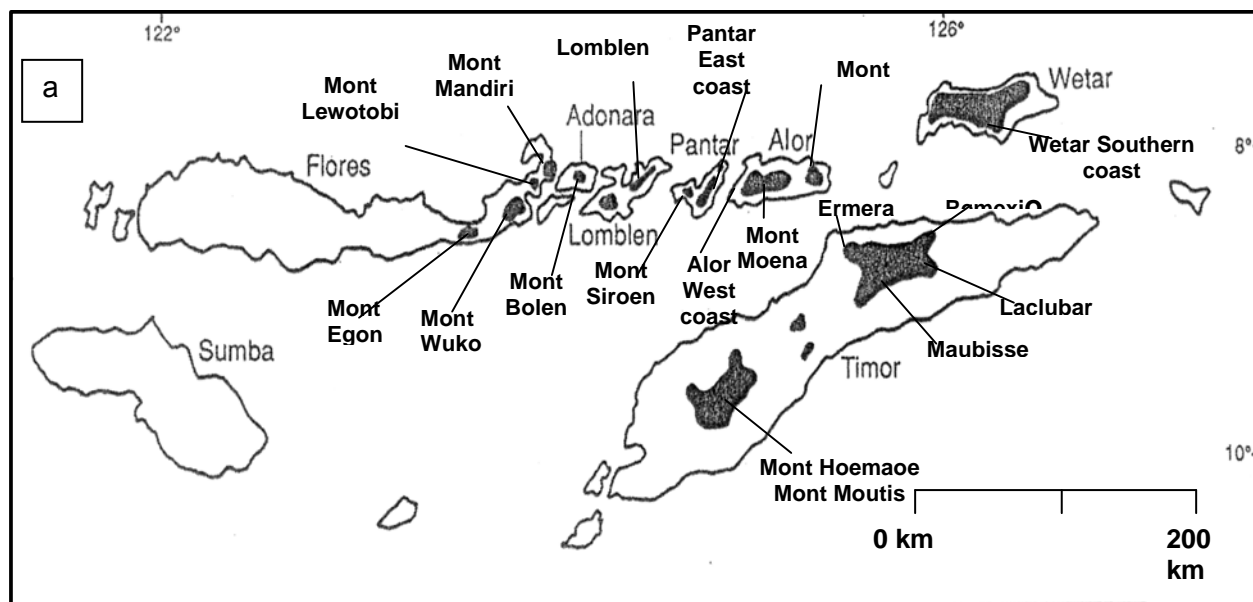


Tableau 3 : Comparaison des valeurs de F_{st} et Q_{st} dans le cas des populations d'*E.urophylla*

espèce	nbre de populations	F_{st}	Q_{st}	caractères	référence
<i>Eucalyptus urophylla</i>	18 populations	moyenne F_{st} = 0.04	Q_{st} =0.07 à 0.33 moyenne Q_{st} =0.20	croissance et survie arbres adultes	Tripania et al. (soumis)

• Conclusion

Le gradient altitudinal affecte fortement la variation des caractères adaptatifs de cette espèce. L'exemple d'*E.urophylla* souligne l'intérêt d'associer plusieurs lectures de la diversité pour comprendre l'impact des différentes forces évolutives. De nombreuses études par le passé ont abordé de façon indépendante "moléculaire et quantitatif" limitant la compréhension des origines de la différenciation entre les populations.

Notre étude reste cependant très incomplète. Le nombre de caractères est très limité; ces derniers concernent principalement les traits d'intérêt sylvicole, mais ne reflètent que partiellement le fonctionnement de l'arbre. De plus, les facteurs abiotiques ne sont pas clairement identifiés sur le gradient altitudinal. Enfin les nouveaux outils de la génomique ouvrent de nouvelles perspectives pour comprendre la façon dont les forces évolutives façonnent la structure et l'expression des gènes. Une approche plus intégrée constitue une prochaine étape pour comprendre la relation entre variation adaptative et gradient environnemental dans le cadre de cette espèce.

Nous reprendrons dans la partie 2 les perspectives de recherche concernant l'adaptation avec comme espèce modèle l'*Eucalyptus urophylla*.

1.1.2 – Configuration géographique des aires naturelles et patrons de diversité: cas des milieux insulaires

Les milieux insulaires ont été considérés comme de remarquables laboratoires d'étude des questions liées à l'évolution (Emerson, 2002). Séparées des continents et des autres îles, ces entités discrètes se caractérisent par une évolution particulière des espèces et des écosystèmes décrite par le syndrome d'insularité : changements morphologiques des organes, évolution des processus de dissémination, du régime de reproduction, etc. (Blondel, 1995).

Concernant la diversité intra spécifique, on observe d'importants changements par rapport aux zones continentales. La colonisation des îles par un petit nombre d'individus (effet de fondation) conduit à une faible diversité génétique et facilite les croisements entre apparentés (Frankham, 1997; 1998). La petite taille des populations accentue aussi les effets de dérive. Par ailleurs les barrières océaniques et les longues distances séparant les îles réduisent les flux de gènes accentuant la différenciation entre les populations. Les attributs biologiques des espèces peuvent fortement évoluer en milieu insulaire. L'évolution vers l'autogamie est évoquée comme moyen pour les plantes de mieux coloniser des milieux insulaires où les chances de croisement sont limitées lors de la phase de colonisation (Barrett, 1998). Cette évolution est aussi favorisée par l'absence d'agents pollinisateurs. La morphologie de certains organes peut aussi évoluer : c'est le cas de certaines graines qui perdent leurs attributs facilitant la dissémination (Carlquist, 1974).

Sur le plan évolutif les arbres offrent un certain attrait, le syndrome d'insularité tendant à favoriser le caractère ligneux/arbre par rapport au caractère herbacé (Givnish, 1998). Ceci étant, peu de résultats relatifs à leur évolution, à leur diversité génétique et leur adaptation

sont aujourd'hui disponibles. Vérifie-t-on les principes observés chez d'autres espèces, c'est à dire :

- Le niveau de diversité intra spécifique en milieu insulaire est-il inférieur à celui des espèces continentales, quel est le niveau de consanguinité?
- Le degré de différenciation est-il supérieur à celui des espèces de milieu continental distribuées de façon continue?
- Quel est l'impact du mode de dissémination sur la différenciation génétique ?
- Quelles sont les causes des relations phénétiques entre populations : dispersion sur de longues distances ou vicariance, histoire géologique, mode de dissémination des graines?
- Quel est l'impact des facteurs biotiques et abiotiques dans la variation des caractères d'adaptation ?

Pour aborder ces questions nos travaux ont porté sur plusieurs genres. Nous ne présenterons ici que les résultats sur le genre *Santalum* qui illustrent l'ensemble des questions.

Nos études ont concerné deux espèces distribuées dans des milieux différents. *Santalum austrocaledonicum* (Bottin *et al.*, 2005; Bottin *et al.*, 2006) est présent de l'archipel de Nouvelle-Calédonie constitué d'une grande île et de petites îles proches (figure 2a). *Santalum insulare* de l'archipel de Polynésie Française (Butaud *et al.*, 2005; Lhuillier *et al.*, sous presse) est présent dans de petites îles très distantes (figure 3a). Ces espèces sont pollinisées par les insectes et produisent des drupes disséminées par les oiseaux. Elles ont été fortement exploitées dans le passé pour les huiles essentielles que produit le bois de cœur. Cette exploitation a diminué considérablement les effectifs, menaçant la pérennité de certaines populations. Mieux comprendre la distribution de la diversité des caractères d'adaptation et de ceux liés à la production des huiles essentielles doit aussi faciliter une stratégie de gestion.

Nous avons abordé la question de la diversité en associant les marqueurs microsatellites chloroplastiques et nucléaires ainsi que des caractères liés à l'histoire de vie et à l'adaptation des espèces.

▪ **Approche locale : clonalité, population et diversité**

Les marqueurs moléculaires nous ont permis d'aborder la question de la clonalité chez ces espèces. Chez *S. insulare*, les approches écologiques et génétiques ont mis en évidence près de 60% de clones dans les populations (Lhuillier *et al.*, sous presse). L'approche écologique, (Butaud, 2006), a permis de formuler des hypothèses sur l'origine de la clonalité : réaction à l'exploitation et/ou stratégie d'adaptation au milieu stressant (altitude, zones de stress hydrique) et/ou conséquence du processus évolutif (développement des stratégies de survie en situation d'isolement).

En milieu insulaire, les évolutions rapides du paysage notamment dues à l'activité humaines (développement de l'activité agricole, plantes envahissantes, feux) perturbent la délimitation des populations d'arbres. Lors des procédures d'échantillonnage, certains contours sont définis a priori en se basant sur les limites géographiques ou des ruptures de peuplements mais sans que l'objectivité des décisions soit réellement testée. C'est le cas des populations de santals que nous avons analysées dans les îles de Nouvelle-Calédonie ou de Polynésie Française. Afin de définir de façon plus objective les populations, nous avons utilisé l'approche bayésienne associant coordonnées spatiales et géotypes selon le modèle proposé par Guillot *et al.* (2005). Cette approche permet de définir aussi les ruptures de flux géniques et les migrants à l'échelle du paysage (Lhuillier *et al.*, sous presse).

En ce qui concerne la diversité, nos résultats ont montré une hétérozygotie plus faible et un indice de fixation plus élevé dans les milieux formés de petites îles par rapports aux populations des zones continentales (Bottin, 2006). Ils sont en accords avec d'autres études

(Frankham, 1997; 1998). Selon cet auteur, les raisons seraient le petit nombre d'individus fondateurs et la faible taille efficace des populations. Les très forts écarts aux proportions d'Hardy Weinberg chez certaines populations de *S. austrocaledonicum* (Bottin *et al.*, 2006) pourraient résulter aussi d'une évolution vers l'autofécondation soulevée par Barrett (1998). Des études plus détaillées sur le régime de reproduction dans les îles seraient à entreprendre pour confirmer cette hypothèse.

▪ **Approche globale : structure de la diversité et relations phénétiques**

Comme ceci était attendu, la différenciation au sein des aires, estimée par les microsatellites, est supérieure à celle d'espèces continentales, compte tenu des flux de gènes limités entre populations séparées par les barrières océaniques. Les valeurs des F_{st} se situent entre 0.30 et 0.50 (Tableau 4) alors que pour les espèces en milieu continental celles-ci se situent autour de 0.10.

Malgré les risques d'homoplasie liés aux microsatellites, les arbres phénétiques, couplés à l'histoire géologique et climatique (Stevenson, 2001), et à la phylogénie du genre (Harbaugh, 2006) ont permis d'émettre quelques hypothèses sur les origines de colonisation. L'origine australienne semble se dessiner pour *S. austrocaledonicum* et au sein de l'archipel l'île principale semble avoir été le centre de dispersion vers les autres îles. Les populations de Grande Terre et des Loyautés apparaissent comme deux ensembles distincts soulignant le peu d'échanges de gènes (Figures 2 a, b et c). En se référant aux origines géologiques et à la phylogénie au niveau du genre (Harbaugh, 2006), on peut formuler l'hypothèse de l'origine des Iles Australes du santal polynésien dont les trois archipels apparaissent séparés sur le plan moléculaire (Figures 3 a, b et c). Pour ce dernier, la question de la pseudo vicariance a aussi été soulevée (Butaud *et al.*, 2005; Lhuillier *et al.*, sous presse); les espèces sont-elles présentes dans les différentes îles par des flux de gènes à partir d'une origine ou alors par séparation ancienne des populations ? La notion de pseudo vicariance, combinaison entre dispersion et spéciation par isolement de populations, est une hypothèse avancée pour expliquer la biodiversité dans les milieux insulaires du pacifique (Van Welsen *et al.*, 2003). De même, le processus de métapopulation au sein des archipels dont les îles naissent et disparaissent selon le fonctionnement des "hot spot" volcaniques permettrait d'expliquer la différenciation au sein des 3 archipels.

Tableau 4 : variabilité des populations de santal : expression de la diversité génétique et de la structuration sur la base de marqueurs neutres estimés chez *S. austrocaledonicum* et *S. insulare*

Espèces	Zone géographique	Nbre de populations	Type de marqueur	Variation H_e	Variation F_{is}	F_{st}	Référence
<i>Santalum austrocaledonicum</i>	Nouvelle-Calédonie Vanuatu aire naturelle distribuée dans un archipel	17 répartie sur une partie de l'aire	Microsatellite nucléaire	0.03 – 0.72	-0.05 – 0.67	0.35	Bottin <i>et al.</i> , 2005
	-		Microsatellite chloroplastique	0.03 – 0.73	-	0.60	Bottin <i>et al.</i> sous presse
<i>Santalum insulare</i>	Polynésie française Pacifique sud aire naturelle distribuée dans plusieurs archipels	11 réparties sur l'ensemble de l'aire	Microsatellite nucléaire	0.28 - 0.49	0.00 - 0.12	0.50	Lhuillier <i>et al.</i> sous presse
	-	-	Microsatellite chloroplastique	0.00 – 0.71		0.67	Butaud <i>et al.</i> , 2005

Figure 2 : Distribution géographique de la diversité chez *Santalum insulare* (Butaud et al., 2005; Lhuillier et al., soumis)

a : distribution des chlorotypes, b : différenciation entre populations illustrée par un arbre construit par la méthode du "neighbour joining" sur données issues de microsatellites chloroplastiques, c : différenciation entre populations illustrée par un arbre construit par la méthode du "neighbour joining" sur données issues de marqueurs microsatellites nucléaires.

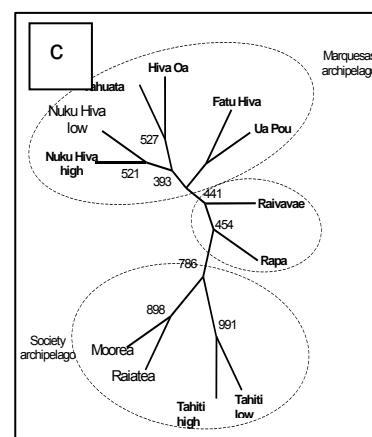
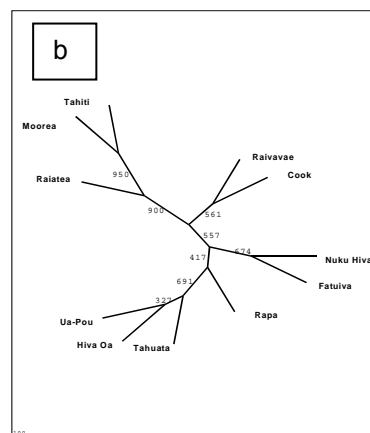
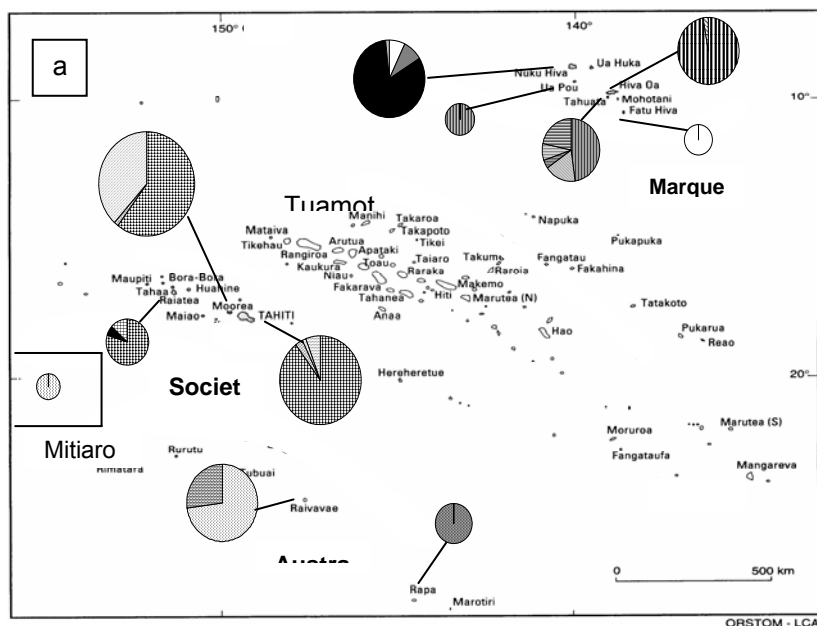
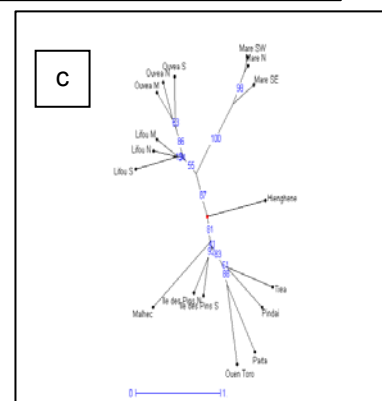
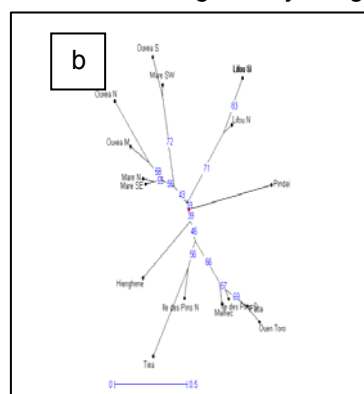
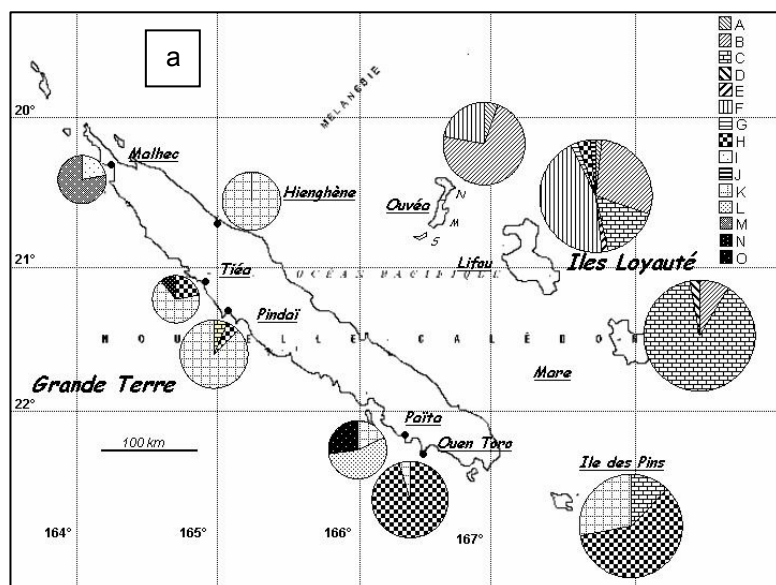


Figure 3 : Distribution géographique de la diversité chez *austrocaledonicum* (Bottin, 2006)

a : distribution des chlorotypes, b : différenciation entre populations illustrée par un arbre construit par la méthode du "neighbour joining" sur données issues de marqueurs microsatellites nucléaires, c : différenciation entre populations illustrée par un arbre construit par la méthode du "neighbour joining" sur données issues de microsatellites chloroplastiques



- **Variation adaptative**

Au sein des îles, sur des périmètres restreints, on observe des variations environnementales très marquées induisant des adaptations locales: la côte au vent opposée à la côte sous le vent et la variation altitudinale sur de très courte distance étant les plus caractéristiques. Pour ces deux santals, la question de l'adaptation locale se pose compte tenu des régimes climatiques très tranchés au sein des îles de Nouvelle-Calédonie et de Polynésie Française. Nous avons axé nos analyses sur trois types de caractères : les organes végétatifs (feuilles), les organes de dissémination (graines) et les composés secondaires présents dans l'huile essentielle. Les deux premiers semblent pertinents pour traiter de l'adaptation, la taille des feuilles et des fruits sont reconnus comme caractères adaptatifs (Fonseca *et al.*, 2000). Le troisième relève de la stratégie de défense des plantes contre les agresseurs : insectes et champignons (Bottin, 2006).

Dans le cas du santal en Nouvelle-Calédonie, l'analyse de la variation s'est réalisée sur un essai de provenances en dispositif expérimental et à partir d'un échantillon recueilli *in situ*. La taille des graines et des feuilles juvéniles montre une forte variance inter populations proche de 70% de la variance totale (Tableau 5). Elle semble être fortement liée à la distribution géographique des populations. Les feuilles juvéniles sont plus effilées et les graines plus petites dans les zones de la côte ouest de Grande-Terre caractérisée par une faible pluviométrie et des sols ferrallitiques alors que les feuilles sont plus ovales et les graines plus grosses dans les populations des îles Loyautés caractérisées par une plus forte pluviométrie et des sols calcaires (Figure 4) (Bottin *et al.*, sous presse). Ce schéma ne semble pas s'appliquer aux composés secondaires (molécules constituant les huiles essentielles) dont la variation inter populations ne représente que 20% de la variance totale (Tableau 5).

Pour le santal de Polynésie Française, on note aussi une forte différenciation entre les populations pour les caractères de morphologie des fruits et des feuilles. Cette différenciation ne correspond pas forcément à la distribution géographique des populations. Elle semble déterminée par les gradients environnementaux au sein de certaines îles comme Tahiti où les santals d'altitude montrent des feuilles et des fruits de plus petite taille (Figure 5). Pour les composés secondaires du bois, la différenciation entre les populations est très faible (15% en moyenne) et ne suit pas le même patron de diversité que les caractères morphologiques (Tableau 5).

Tableau 5 : variabilité des populations de santals : décomposition de la variance entre et au sein des populations, héritabilité intra population pour plusieurs espèces σ_p^2 : variance inter populations, σ_{wp}^2 : variance intra population, σ_A^2 : variance additive ($4 * \sigma_f^2$), σ_f^2 : variance entre familles de demi frères.

variance intra population, σ_A^2 : variance additive (σ_f^2 , σ_{wf}^2 : variance entre familles de demi-frères.						
Espèce	Caractères	partition de la variance $R_p = \sigma_p^2 / (\sigma_p^2 + \sigma_{wp}^2)$	Héritabilité au sens strict $H^2 = \sigma_A^2 / (\sigma_f^2 + \sigma_{wf}^2)$	observations	référence	
<i>Santalum austrocaledonicum</i>	Largeur feuille	0.85	Non défini	3 provenances	Bottin (2006)	
	Longueur feuille	0.70				
	Largeur fruit	0.85		8 provenances		
	Longueur fruit	0.71				
	Composés sec.	0.20				
<i>Santalum insulare</i>	Largeur feuille	0.68	Non défini	70 provenances	Butaud (2006)	
	Longueur feuille	0.55				
	Largeur fruit	0.91		10 provenances		
	Longueur fruit	0.88				
	Composés sec.	0.15				

Figure 4 : variation de la taille des graines et de la taille des feuilles juvéniles en fonction des populations chez *Santalum austrocaledonicum* (Bottin, 2006)

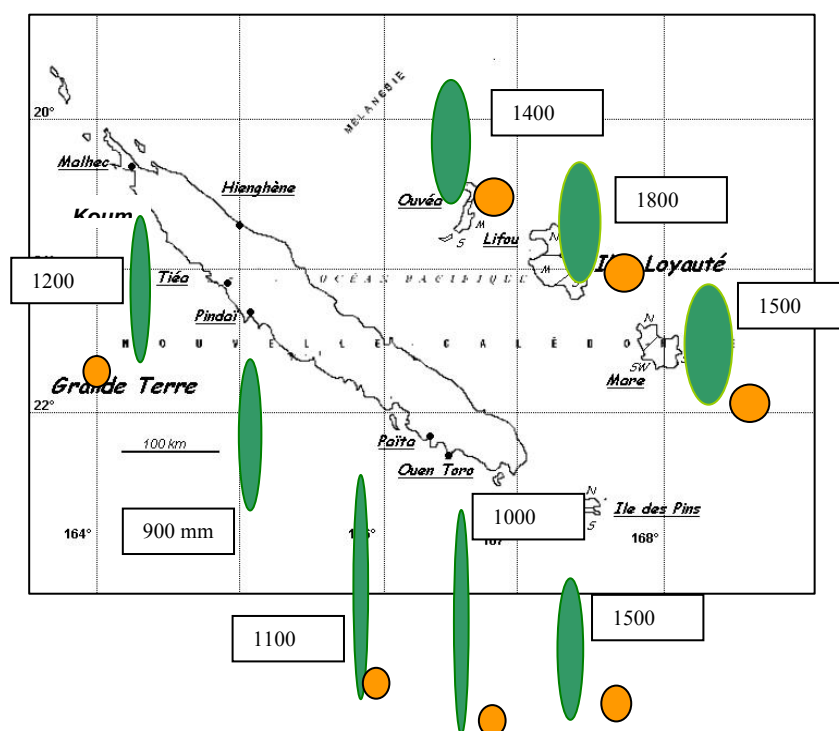
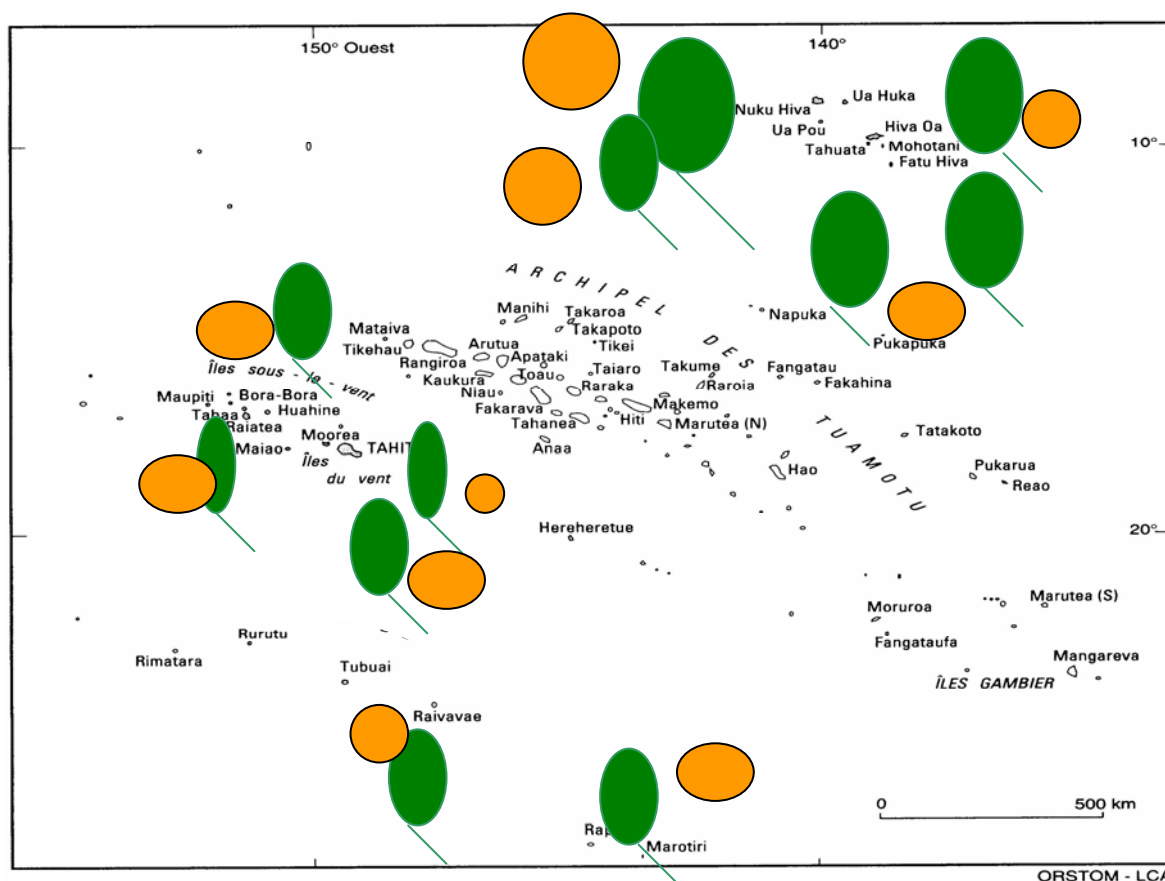


Figure 5 : variation de la taille des graines et de la taille des feuilles adultes en fonction des populations chez *Santalum insulare* (Butaud, 2006)



La question est de savoir si ces variations phénotypiques résultent d'adaptations locales, hypothèse très plausible compte tenu des gradients environnementaux très forts, ou alors de la différenciation des populations par des effets de dérive exacerbés par les petites populations sans flux de gènes. Pour répondre à cette question nous avons comme précédemment comparé la différenciation phénotypique et moléculaire par la comparaison des indices de structuration. Nous avons utilisé certaines hypothèses (variance phénotypique égale variance additive) compte tenu de l'absence de dispositifs adéquats pour séparer les effets additifs des autres effets (environnementaux).

- **Interaction entre effet de dérive et adaptation locale**

Chez *S. austrocaledonicum*, avec $Q_{st} > F_{st}$ (Tableau 6), les effets d'adaptation locale semblent prépondérants par rapport aux effets de dérive et de rupture de flux de gènes pour expliquer la différence de taille des feuilles et des graines. Cette prépondérance pourrait résulter de l'adaptation au régime pluviométrique plus sec de la côte ouest de Grande Terre. Par contre, pour les composés secondaires du bois (constituants sesquiterpénoïdes des huiles essentielles), la variation inter populations est beaucoup plus réduite, 20%, et $Q_{st} < F_{st}$, ce qui suggère une sélection stabilisante pour ces caractères autour d'un optimum.

Dans le cas de *S. insulare*, on note aussi une forte différenciation pour ces mêmes caractères (Tableau 6) mais elle ne semble pas suivre la distribution du santal (Figure 5). Les valeurs de Q_{st} sont assez proches de celles de F_{st} pour la taille des feuilles adultes suggérant les effets de dérive comme facteur expliquant la différenciation de ce caractère. On retrouve $Q_{st} > F_{st}$ montrant que la taille des graines pourrait être déterminée par une adaptation locale. On retrouve en fait une différenciation marquée au sein de certaines îles comme Nuku Hiva et Tahiti qui pourrait être due à des gradients environnementaux liés à l'altitude couplé à la présence de certains oiseaux disséminateurs (Butaud, 2006). Pour les composés secondaires on retrouve une faible différenciation inter populations, et $Q_{st} < F_{st}$ ce qui suggère chez cette espèce aussi un possible effet de la sélection stabilisante à l'échelle de la population totale.

Tableau 6 : Distribution de la variation inter et intra population et Comparaison des valeurs de F_{st} et Q_{st} dans deux expériences de santal

espèce	nombre de populations	F_{st}	$R_p = \sigma^2_p / (\sigma^2_p + \sigma^2_{wp})$	$Q_{st} = \sigma^2_p / (\sigma^2_p + 2\sigma^2_A)$	référence
<i>Santalum austrocaledonicum</i>	11 populations	$F_{st}=0.35$	longueur feuilles $R_p=0.70$ largeur feuille $R_p=0.85$ longueur graines $R_p=0.70$ largeur graines $R_p=0.85$ Composés sec. $R_p=0.20$	longueur feuilles $Q_{st}=0.54$ largeur feuille $Q_{st}=0.74$ longueur graines $Q_{st}=0.55$ largeur graines $Q_{st}=0.74$ Composés sec. $Q_{st}=0.05-0.22$	Bottin (2006)
<i>Santalum insulare</i>	10 à 12 populations (en fonction des caractères)	$F_{st}=0.50$	longueur feuilles $R_p=0.68$ largeur feuille $R_p=0.55$ longueur graines $R_p=0.88$ largeur graines $R_p=0.91$ composés sec. $R_p=0.20$	longueur feuilles $Q_{st}=0.53$ largeur feuille $Q_{st}=0.38$ longueur graines $Q_{st}=0.79$ largeur graines $Q_{st}=0.83$ Composés sec. $Q_{st}=0.07-0.34$	Butaud (2006)

Calcul des Q_{st} en faisant l'hypothèse que la variance génétique intra population est composée uniquement de variance additive

- **Conclusion**

A travers l'exemple de deux espèces de santal, nos résultats rejoignent certains attendus en milieu insulaire (faible diversité locale, forte différenciation). Ils soulèvent son impact sur les

traits d'histoire de vie; dans le cas du santal, il s'agit de l'évolution du taux d'autofécondation dans certaines circonstances (isolement, absence d'agent pollinisateurs). Ils montrent que la compréhension de l'origine des populations est une approche complexe associant d'autres types de marqueurs (séquences) et une bonne connaissance de l'évolution géographique. Ils soulignent la nécessité d'associer plusieurs outils d'analyse de la diversité afin de mieux comprendre ses déterminants. Certaines forces évolutives (dérive) fortement exacerbées dans ce type de milieu peuvent en masquer d'autres.

Le traitement de plusieurs types de caractères (morphologie des organes, métabolites secondaire) montre aussi que les facteurs évolutifs n'interviennent pas de la même façon selon le rôle de tels ou tels caractères dans le développement et la survie de l'arbre. Cette étude souligne la nécessité de prendre en compte plusieurs caractères, permettant de mieux décrire le fonctionnement de la plante, pour comprendre l'impact des facteurs évolutifs.

1.1.3 – Facteurs évolutifs et domestication: le karité en zone soudano-sahélienne

Le processus de domestication a profondément transformé les plantes de grande culture par des pressions de sélection associées à la moisson (augmentation du pourcentage de graines récupérées, augmentation de la production de graines) et/ou associées à la compétition entre plantules (accroissement de la vigueur des jeunes plantes et germination plus rapide) (Harlan, 1987).

La grande majorité des arbres forestiers tempérés ou tropicaux, exploités pour leur bois, demeurent des espèces dites « sauvages ». Ils n'ont pas subi de processus de domestication sur de longues périodes comme certaines plantes vivrières ou certains arbres fruitiers dont le génotype/phénotype a été fortement modifié.

Les programmes d'amélioration récents (milieu du siècle dernier) et la durée des cycles de rotation n'ont pas permis de transformer de façon marquée les espèces (Campbell *et al.*, 2003). Même si pour certaines, comme les peupliers, on note un compartiment sauvage et cultivé (Lefèvre, 2002), il n'existe pas d'évolution notable de la morphologie ou de la physiologie différenciant les formes cultivées des formes sauvages. On peut cependant s'attendre à ce que la domestication favorise une bonne forme du tronc, un bon élagage naturel, des croissances initiales plus rapides, des floraisons abondantes et précoces et des propriétés du bois adaptées à la demande : moins de lignine pour la pâte à papier par exemple.

En zone tropicale, du fait de leur utilisation ancestrale dans les systèmes agroforestiers, certaines espèces sont considérées en cours de domestication. Elles sont gérées et exploitées pour la production du bois d'énergie mais aussi pour les produits forestiers non ligneux : fruits, gomme, huiles essentielles. Elles représentent sur le plan économique et social une ressource naturelle très importante dans de nombreuses régions tropicales notamment en zone soudano-sahélienne (Boffa, 1999).

Dans le cadre d'agro-systèmes tels que les parcs agroforestiers, à la fois plus simples par rapports aux écosystèmes forestiers naturels car réduits en nombres d'espèces mais aussi plus complexes car pouvant très rapidement évolués, est il possible de mesurer l'impact de l'activité humaine sur l'expression de la diversité génétique ?

De quelle façon les pratiques agricoles influencent elles les forces évolutives (plus particulièrement la migration et la sélection naturelle) au sein des peuplements agroforestiers selon les différentes échelles spatiales ?

Le supposé processus de domestication a-t-il façonné les formes agroforestières par rapports aux formes considérées comme sauvages (présentes dans des zones de forêts) ?

Nous avons abordé certaines de ces questions en développant des recherches sur *Vitellaria paradoxa*, (famille des sapotacées), plus communément connu sous le nom de karité. Il s'agit d'un arbre de 20 m de haut, atteignant des diamètres de 0.50 m. C'est une espèce produisant des noix, riches en corps gras, utilisées dans l'industrie agroalimentaire, pharmaceutique et cosmétique. Elle constitue une source de revenus complémentaires pour les populations rurales de la zone soudano-sahélienne compte tenu de la commercialisation du beurre de karité au niveau national et international. L'espèce est distribuée du Sénégal à l'Ouganda au sein d'une aire de 5000 km de long sur 600 km de large avec une pluviométrie qui varie du Nord au Sud (entre 9° et 16° de latitude nord) de 400 à 1200 mm/an. Dans les parcs agroforestiers, les arbres sont régulièrement distribués au milieu des champs produisant des cultures vivrières (sorgho, mil) ou des cultures de rente (coton). Elle est régénérée selon un cycle champ-jachère où l'état de jachère peut durer 15 à 20 ans permettant l'installation de nouvelles cohortes. La densité des arbres dans les champs varie de 10 à 30 individus adultes et dépend de la zone pédoclimatique, de l'âge du champ et du mode de culture. Les parcs à karité couvrent des surfaces importantes en Afrique de l'Ouest, on estime par exemple 4 millions d'hectares au Mali.

Peu d'études ne sont penchées sur la question du syndrome de domestication chez cette espèce. Les auteurs soulignent que son utilisation depuis plusieurs siècles par les agriculteurs a favorisé la prédominance de certains caractères nécessaires à sa régénération (maturité précoce) et à une production accrue des fruits (floraison abondante, faible coulure) (Lovett et Haq, 2000). Maranz et Wiesman (2003) expliquent que l'expansion du Karité en Afrique de l'Ouest est liée à l'occupation progressive par l'homme de territoires forestiers et soulignent que les fortes concentrations en certains acides gras dans les régions du Burkina Faso résultent d'une sélection par les agriculteurs. Il n'existe pas à notre connaissance d'étude comparant des formes supposées domestiquées et des formes supposées sauvages si tant est que ces dernières soient identifiables.

Pour aborder la relation entre domestication et facteurs évolutifs, nous avons axé nos recherches sur l'impact de l'activité humaine sur la dynamique des flux de gènes selon trois niveaux correspondant à trois échelles spatiales: (i) le niveau local correspondant à des populations distribuées selon un terroir agricole, (ii) le niveau régional correspondant à un système/réseaux de parcs agroforestiers, (iii) et le niveau global correspondant à l'aire naturelle.

Les questions que nous avons abordées sont les suivantes:

- Quel est l'impact des pratiques agricoles sur la dynamique de la diversité au niveau du terroir ?
- La dynamique à l'échelle locale est-elle un facteur explicatif de la dynamique à l'échelle régionale ?
- La distribution de la diversité des caractères liés à l'adaptation est-elle influencée par les gradients environnementaux nord-sud? Cet hypothétique impact est-il influencé par les pratiques agricoles ?
- Quels sont les déterminants potentiels de la différenciation au sein de l'aire naturelle, les activités humaines ont-elles pu influencer les flux géniques abordés sur un plan historique ?

▪ *Dynamique de la diversité au niveau local*

Nos premiers résultats ont montré que les pratiques agricoles induisent plusieurs changements au sein des peuplements de parcs agroforestiers comparés à ceux des zones de forêts naturelles ou de très anciennes jachères: on observe une faible structure spatiale du positionnement des arbres résultant de la mise à distance par les agriculteurs (Kelly *et al.*, 2004a) et une augmentation de la floraison dans les parcs due à un meilleur éclaircissement des houppiers et à l'amélioration des ressources en eau et nutritives (Kelly *et al.*, soumis). Sur le plan démographique, la régénération apparaît plus abondante dans les champs mis en jachères qu'en forêt naturelle compte tenu de la meilleure fertilité et de l'absence de compétition. Sa distribution est plus complexe en forêt; en effet en forêt les arbres d'autres espèces servent de lieux de dégustation des fruits par les disséminateurs (singes) et une abondante régénération est observée à proximité. La distribution de cette régénération est donc plus structurée en jachère du à un comportement moins influencé par les disséminateurs et la végétation autre que le karité (Kelly, 2005). Nous avons cherché à quantifier l'impact de ces évolutions démographiques et phénologiques sur la dynamique de la diversité génétique. Nous avons analysé celle-ci dans différents stades du cycle agroforestier: en comparant des populations en phase de champ et des populations en phase de jachère (population de karité livrée à elle même pendant plusieurs années et produisant une abondante régénération). Nous avons aussi comparé les populations du cycle champ/jachère avec les populations présentes dans des zones de forêts naturelles.

Localement on note les proportions d'Hardy Weinberg, une absence de structure entre les populations et une très très faible structure entre les cohortes (Kelly *et al.*, 2004b). On note une spatialisation de la diversité génétique en tâche plus marquée dans la parcelle jachère par rapport à la parcelle forêt (Kelly *et al.*, 2004b). Les cohortes adultes des champs et de la jachère ne sont pas différenciées sur le plan génétique. Ces résultats soulignent qu'à l'échelle locale, peu de différenciation entre les types de gestion (agro forêt ou forêt) et les cohortes est à noter. Ce résultat dérive probablement des pratiques agricoles qui favorisent les flux de gènes et le brassage génétique.

Sur le plan quantitatif les analyses récentes sur la taille des organes floraux et végétatifs ne montrent pas de spatialisation de la diversité génétique dans les parcelles de parcs. On observe cependant une forte variation entre les individus (Bouvet non publié). Une étude basée sur un nombre de marqueurs plus important cherche à établir les pedigrees au sein des champs et étudier la relation avec la variation quantitative pour estimer les paramètres génétiques (Ritland, 1996).

▪ *Dynamique à l'échelle régionale*

Partant du constat que les pratiques agricoles favorisaient les flux de gènes à l'échelle locale et que ces pratiques couvrent la majeure partie de l'aire naturelle du karité au Mali, nous avons voulu vérifier l'hypothèse que la structure génétique était faible à l'échelle régionale.

A cette échelle, les résultats montrent aussi une faible structuration génétique des populations (tableau 7). Les résultats obtenus par marqueurs microsatellites font apparaître une différenciation très modérée ($F_{st}=0.047$ pour les microsatellites nucléaires et $F_{st}=0.00$ pour les microsatellites chloroplastiques) alors que les valeurs attendues pour une espèce dont la dissémination par graines est barochore et zoochore (faible distance) sont plus élevées (Sanou *et al.*, 2005). Les pratiques agricoles observées favorisant les flux de gènes à échelles locales favoriseraient aussi les flux à une échelle plus régionale compte tenu de la place qu'occupe les parcs dans le paysage malien.

Par ailleurs l'absence de variation sur les chlorotypes (obtenus avec des microsatellites chloroplastiques) montrent aussi une origine commune assez forte (Fontaine *et al.*, 2004).

Tableau 7 : Expression de la diversité génétique et de la structuration sur la base de marqueurs neutres estimés chez *Vitellaria paradoxa*

Espèces	Zone géographique	Nbre de populations	Type de marqueur	Variation He	Variation Fis	Fst	référence
<i>Vitellaria Paradoxa</i>	Zone soudano-sahélienne aire naturelle continue	11 réparties au Mali et Côte d'Ivoire	Microsatellite nucléaire	0.26 – 0.35	-0.23 – 0.23	0.047	Sanou <i>et al.</i> (2005)
		-	Microsatellite chloroplastique	0.00		0.00	Fontaine <i>et al.</i> (2004)

Une étude entreprise sur les populations *in situ* au Mali couplée à un essai de provenances maliennes analysées au stade pépinière (jardin commun) a permis de recueillir de nouvelles données des caractères liés à l'adaptation et a cherché à mettre en relation les performances et le gradient pluviométrique nord sud (variant au Mali de 400 à 1200 mm).

On note une forte variation entre les populations et un fort déterminisme génétique comme le montrent les héritabilités individuelles élevées (Tableau 8). La variation des caractères, notamment ceux de valeur adaptative comme la surface des feuilles et la croissance au stade juvénile ne semble cependant pas corrélée (ou très faiblement) à ce gradient pluviométrique (Sanou *et al.*, 2005 ; Sanou *et al.*, 2006). Ceci est illustré par les figures 6 a et b montrant le peu de relation entre les 3 groupes, définis par la taille de feuilles, et leur distribution selon l'axe nord sud.

Les résultats obtenus par d'autres études sur les composés de l'amande des fruits (pourcentage d'acide gras) ont par contre souligné un plus fort pourcentage en zone sahélienne. Cette variation, qui demande à être validée par une expérimentation plus puissante, pourrait s'expliquer par une adaptation à la résistance à la sécheresse pendant la période de germination (Maranz *et al.*, 2003).

Tableau 8 : exemple de décomposition de la variance entre et au sein des populations, héritabilité intra population pour *Vitellaria paradoxa*. σ_p^2 : variance inter populations, σ_{wp}^2 : variance intra population, σ_A^2 : variance additive ($4 \times \sigma_f^2$), σ_f^2 : variance entre familles de demi frères.

espèce	caractères	partition de la variance $R_p = \sigma_p^2 / (\sigma_p^2 + \sigma_{wp}^2)$	Héritabilité au sens strict $H^2 = \sigma_A^2 / (\sigma_f^2 + \sigma_{wf}^2)$	observations	référence
<i>Vitellaria paradoxa in situ</i>	hauteur diamètre houppier circonférence longueur limbe largeur du limbe longueur du Pétiole angle base limbe angle base limbe longueur du fruit largeur du fruit poids de la noix poids du fruit	0.32 0.25 0.40 0.17 0.16 0.20 0.84 0.66 0.27 0.35 0.35 0.38	Non défini	expérimentation sur 1500 arbres adultes en 50 populations agroforestières	Sanou <i>et al.</i> (2006)
<i>Vitellaria paradoxa milieu contrôlé</i>	hauteur circonférence longueur limbe largeur du limbe angle base limbe angle bout limbe	0.16 0.22 0.25 0.27 0.43 0.45	0.45 0.26 0.53 0.53 0.64 0.66	11 populations 141 descendances expérimentation sur jeunes plants en pépinière	Sanou <i>et al.</i> (2005)

Figure 6 : illustration de la variation et de la distribution des provenances de *Vitellaria paradoxa* du Mali basée sur la taille et forme des feuilles (Sanou *et al.*, 2006)

a : distribution des provenances au Mali selon les 3 groupes déterminées par la classification ascendante hiérarchique (CAH), b : CAH permettant le regroupement des provenances selon 3 groupes selon la méthode de Ward.

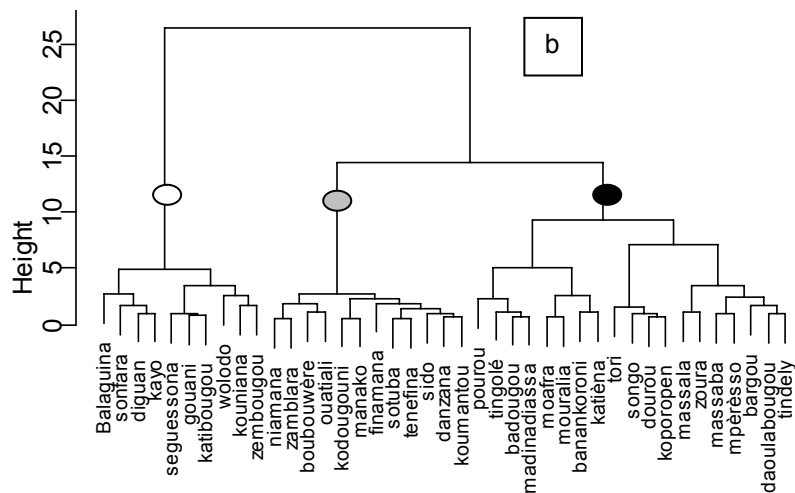
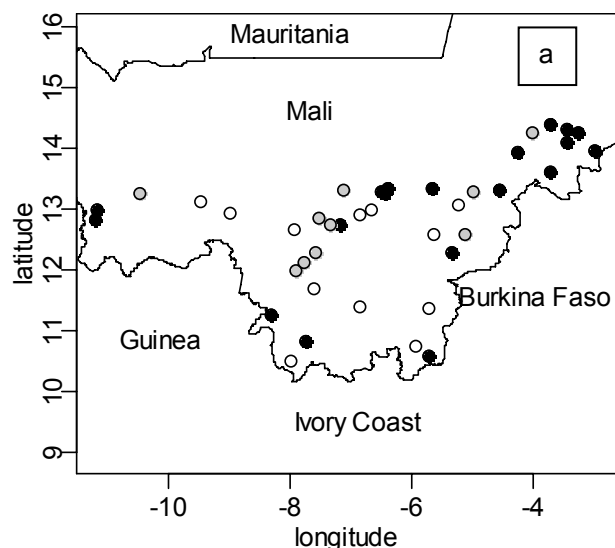
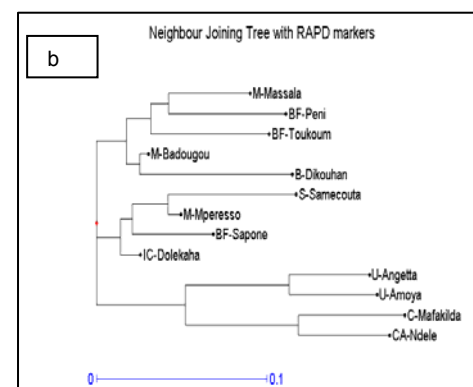
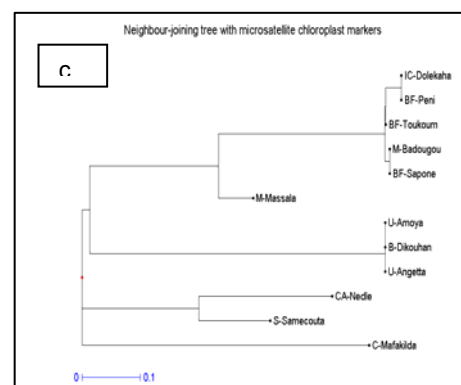
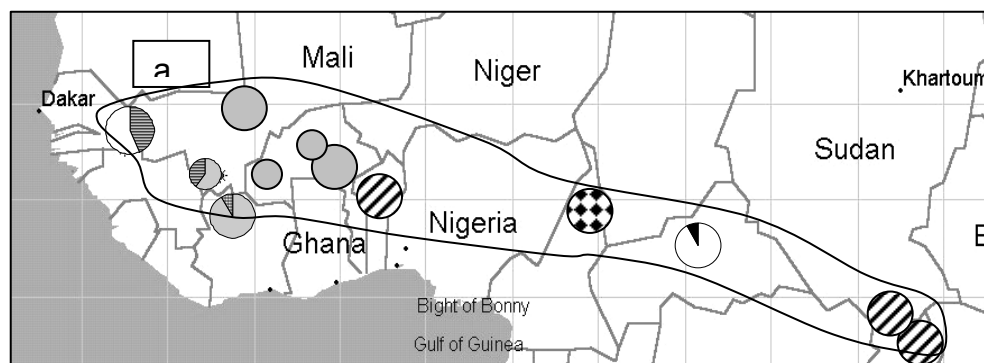


Figure 7 : Distribution géographique de la diversité chez *Vitellaria paradoxa* (Fontaine *et al.*, 2004)

a : distribution des chlorotypes, b : différenciation entre populations illustrée par un arbre construit par la méthode du "neighbour joining" issu des données RAPD, c : différenciation entre populations illustrée par un arbre construit par la méthode du "neighbour joining" issu des microsatellites chloroplastiques



Nous avons analysé conjointement la diversité neutre par marqueurs microsatellites et la diversité de caractères adaptatifs (croissance, morphologie des organes végétaux et des fruits) (Sanou *et al.*, 2005). Les principaux résultats soulignent que malgré une faible différenciation des populations sur les marqueurs moléculaires (faible F_{st}), suggérant un flux de gènes efficace, la différenciation sur les caractères adaptatifs est en moyenne 5 fois plus importante (Q_{st} élevé) (Tableau 9). Comme précédemment (paragraphe 1.1.1), cette apparente contradiction entre flux de gènes important et adaptation locale, peut être expliquée par les effets du déséquilibre de liaison entre loci codant pour des gènes adaptés localement (Latta, 2003 ; Le Corre et Kremer, 2003).

Notre étude ne met pas en évidence d'effets marqués de la sélection naturelle selon le gradient Nord/Sud. Cette espèce faisant l'objet d'un processus de domestication qu'il est difficile de dater mais probablement très ancien, il est possible que les effets de la sélection naturelle selon le gradient soit masqué. Des variétés, conséquences des pratiques agroforestières ont pu être sélectionnées localement de façon ancestrale et confèrent une variation écotypique. Il est possible aussi que les variations s'expriment selon des ruptures brutales (effet seuil) comme semble le montrer les valeurs particulières des populations de la zone sahélienne (Maranz *et al.*, 2003; Sanou *et al.*, 2006). Toutes ces études étant basées sur un échantillon limité, les conclusions définitives devront être formulées avec des expériences plus puissantes sur le plan statistique.

Afin de différencier les éventuels effets de la domestication des effets de l'adaptation au gradient environnemental, de nouvelles études seraient à entreprendre avec plusieurs types de traits : ceux supposés relever de la domestication et ceux supposés relever uniquement de l'adaptation au cline environnemental. Des patrons de diversité différents permettraient alors de mesurer les effets de la domestication.

Tableau 9: Comparaison des valeurs de F_{st} et Q_{st} chez *Vittellaria paradoxa*

espèce	nbre de populations	F_{st}	Q_{st}	caractères	référence
<i>Vittellaria paradoxa</i>	11 populations distribuées selon l'axe nord sud	$F_{st} = -0.011$ à 0.142 moyenne $F_{st} = 0.047$	$Q_{st} = 0.055$ à 0.283 moyenne $Q_{st} = 0.19$	morphologie et croissance appareil végétatif jeunes plants	Sanou <i>et al.</i> (2005)

▪ *Distribution de la diversité au niveau de l'aire naturelle*

Peut-on appréhender l'impact des pratiques humaines à l'échelle de l'aire naturelle du Karité. Des analyses couplant marqueurs RAPDs et marqueurs microsatellites chloroplastiques ont fait apparaître une forte différenciation et une faible diversité au sein des populations échantillonnées sur l'ensemble de l'aire (tableau 10). Deux groupes au sein de l'aire naturelle, l'un formé des populations de l'ouest et l'autre des populations du centre-est de l'aire semblent se dessiner (Figure 7a, b et c). Cette séparation pourrait s'expliquer par les refuges lors de la dernière période glaciaire sur la côte d'Afrique de l'ouest et les refuges dans la zone de l'actuel Cameroun séparés par la région du "Dahomey gap", zone particulièrement sèche au cours de la période glaciaire (Fontaine *et al.*, 2004). En zone soudano-sahélienne, les dernières glaciations ont entraîné d'amples mouvements de la végétation. Les hypothèses les plus modérées proposent une régression des frontières nord de la forêt humide de 400 km après la période plus favorable de l'Holocène entre 4,000 et 7,000 AJC (Salzmann et Waller, 1998). Afin de permettre la survie de certaines espèces durant les épisodes les plus arides, Maley (1996) a proposé des refuges putatifs le long de la côte ouest africaine, au sud ouest du

Cameroun, le long de la rivière du Zaïre et dans les zones orientales de l'actuelle République Démocratique du Congo. C'est avec cet hypothétique schéma que nous avons tenté d'expliquer la distribution de la diversité de *Vitellaria paradoxa* en zone soudano-sahélienne (Bouvet *et al.*, 2004; Fontaine *et al.*, 2004).

Des différences marquées ont aussi été notées entre les provenances de l'est de l'aire (Soudan et Uganda) et les provenances d'Afrique de l'ouest pour des caractères de morphologie des organes végétatifs, notamment la forme des feuilles plus petite à l'est (Hall *et al.*, 1996) mais aussi pour les composés en acide gras des amandes, notamment les pourcentages d'acide stéarique et oléique (Maranz *et al.*, 2004). Les effets de dérive combinés à des flux de gènes limités entre populations de l'est et de l'ouest pourraient expliquer, du moins en partie, la différenciation des populations pour les caractères agronomiques et morphologiques.

Il n'est pas exclu que les effets de migration à grande échelle puissent être en partie influencés par la présence humaine. Certains auteurs suggèrent une forte expansion de l'aire dans la zone Burkina, Mali, et surtout Sénégal liée aux déplacements humains (Maranz et Wiesmann, 2003) comme l'attestent des cartes de distributions datant de deux siècles.

Tableau 10 : Expression de la diversité génétique et de la structuration au sein de l'aire naturelle sur la base de marqueurs neutres estimés chez *Vitellaria paradoxa*

Espèces	Zone géographique	Nbre de populations	Type de marqueur	Variation He	Variation Fis	Fst	référence
<i>Vitellaria Paradoxa</i>	Zone soudano-sahélienne aire naturelle continue	13 sur l'ensemble de l'aire	RAPD	0.16 – 0.23	-	0.22	Fontaine <i>et al.</i> (2004).
	-	-	Microsatellite chloroplastique	0.00 – 0.49	-	0.88	idem

▪ Conclusion

C'est par l'association de plusieurs disciplines, (génétique, écologie), de plusieurs outils (moléculaire et quantitatifs) et de plusieurs échelles d'approches (local au global) que nous parvenons à mieux comprendre les patrons de diversité de cette espèce en relation avec son processus de domestication. Par cette combinaison, nous tentons de lier les facteurs évolutifs et les patrons de la diversité.

Notre étude reste incomplète et soulève aussi de nouvelles questions. Existe-t-il réellement un patron d'adaptation selon le gradient pluviométrique et pour quel type de caractères s'exprime-t-il ? Les pratiques agricoles ancestrales ont-elles perturbé ce cline environnemental attendu et doit-on s'attendre plutôt avec une variation écotypique liée à la domestication (effet village, ethnique ?) ? Le processus de domestication a-t-il conduit à la sélection de certains caractères tels que la qualité des constituants des fruits ?

1.1.4 - Conclusion

La diversité génétique s'exprime fortement au sein des espèces d'arbre. Ces espèces, encore «sauvages» ou dans un processus de domestication relativement récent, possèdent une large base génétique donnant la possibilité aux effets additifs de s'exprimer comme le soulignent les fortes héritabilités au niveau individuel de plusieurs caractères de croissance, de morphologie et de composition chimique du bois

Nos résultats montrent que les patrons de diversité varient en fonction des caractères (morphologie des organes végétatifs et floraux, traits d'histoire de vie, composés secondaires...) et qu'il est donc important de diversifier nos traits pour comprendre comment les forces évolutives agissent sur le phénotype dans sa globalité et dans son fonctionnement. Nos études ne concernent cependant qu'un petit nombre de caractères dont la pertinence est

très discutable. Certains sont pris par habitude (taille des arbres) d'autres sont mesurés par facilité, notamment lors des récoltes in situ. Une approche d'écologie fonctionnelle proposant de tester des hypothèses relatives au fonctionnement de l'arbre, à la dissémination etc... pourrait nous permettre de définir un ensemble de caractères plus pertinent par rapport aux questions d'adaptation. Des études récentes, basées sur le fonctionnement des plantes, ont approfondi les types de caractères à appréhender pour caractériser entre autres l'adaptation des plantes (Cornellissen *et al.*, 2003)

Les trois exemples ont souligné que l'histoire évolutive des populations, l'impact des activités humaines, l'impact des facteurs biotiques et abiotiques interagissent pour façonner la diversité au sein de l'espèce.

Les trois problématiques que nous avons présentées pour synthétiser une partie de nos activités ont en fait en commun la question de l'adaptation des populations aux conditions environnementales. C'est sur cette question centrale que nous souhaitons développer notre futur projet de recherche.

Dans la prochaine partie nous allons aborder l'expression de la variabilité au cours de la croissance. Elle complètera en quelque sorte la première partie qui était orientée vers les facteurs évolutifs.

1.2 – Expression de la variabilité au cours du développement chez les *Eucalyptus*

Les études précédentes ont montré qu'une part importante de la variabilité adaptative résidait au sein des populations. Ce chapitre propose d'explorer en détail la façon dont les effets génétiques et environnementaux s'expriment au sein d'une population et plus particulièrement au cours de la croissance.

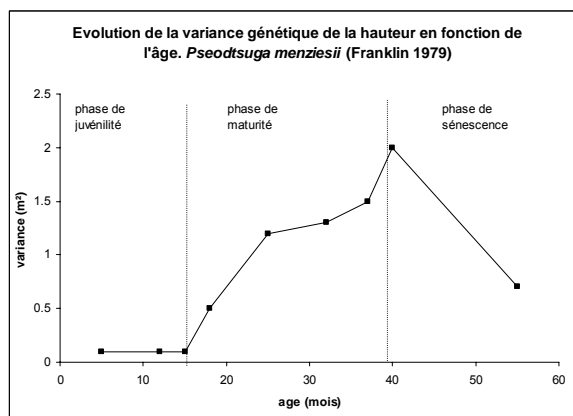
Les arbres se développent selon des cycles généralement longs, plusieurs années voire plusieurs siècles. Le fonctionnement des gènes au cours de si longues périodes, en interaction avec un environnement variable doit être pris en compte pour étudier l'expression de la variabilité au cours de la croissance. La méthodologie que nous avons adoptée relève du modèle de génétique quantitative : $P = G + E + G \times E$ où P représente le phénotype, G le génotype, E l'environnement et $G \times E$ l'interaction génotype environnement.

Nos travaux se sont réalisés dans le cadre d'un schéma d'évolution des variances proposé par Franklin (1979). Celui-ci a étudié l'évolution des variances additives et non additives au sein de populations d'amélioration de deux espèces de conifères : le douglas (*Pseudotsuga menziesii*) et un pin américain (*Pinus ponderosa*). Cette étude lui a permis de définir un modèle d'expression de la variabilité comportant trois phases (voir Figure 8) :

- la phase de juvénilité (juvenile genotypic phase) : au cours de cette phase la variance génétique additive reste à un niveau très bas, c'est une période où les effets du milieu sont prépondérants et où les effets génétiques des caractères de croissance s'expriment peu,
- la phase de maturité (mature genotypic phase) : la variance additive augmente. La transition entre la première et deuxième phase correspond à une augmentation de la compétition inter arbres et à la fermeture du couvert,
- la phase de suppression de la codominance (codominance suppression phase) : la variance additive diminue. La transition de la deuxième à la troisième phase correspond à un ralentissement de la croissance des arbres les plus productifs subissant une forte

compétition et à la disparition d'arbres dominés ; finalement on aboutit à une homogénéisation du peuplement et une diminution de la variance additive.

Figure 8 : modèle d'évolution de la variance génétique des caractères de croissance au cours du développement (cas du douglas (*Pseudotsuga menziesii*))



Partant des hypothèses de Franklin et appliquant le modèle classique de la génétique quantitative, plusieurs questions relatives à l'expression de la variabilité avec l'âge peuvent être abordées :

- Quelle est l'évolution des effets additifs et des non additifs au cours du développement ?
- Cette évolution est-elle identique pour les caractères de croissance, de morphologie et de propriété du bois ?

Franklin (1979) suggère qu'une augmentation de la compétition inter arbres peut raccourcir ces différentes phases et accroître le niveau de corrélation âge-âge au sein des phases. Cette seconde hypothèse nous a conduit à étudier l'expression de la variabilité en situation de compétition induite par une plus forte densité de plantation. Les questions suivantes ont été abordées :

- Quel est l'impact de la compétition sur l'expression de la variabilité au cours de la croissance ?
- Quel est le degré de plasticité phénotypique lors de la compétition inter arbres ?
- La plasticité est-elle sous contrôle génétique ?
- l'intégration phénotypique est-elle influencée par la compétition ?
- la corrélation âge-âge est-elle influencée par la compétition ?

Nous avons traité ces questions avec plusieurs espèces d'eucalyptus dont les particularités biologiques présentent plusieurs avantages pour étudier l'expression des composantes de la variance (voir encadré 1).

Ces recherches sont basées sur une lourde expérimentation de terrain et se sont réalisées dans le cadre du programme d'amélioration des eucalyptus en République du Congo (Vigneron et Saya, 2006).

Encadré 1 : Quelques mots sur les eucalyptus

Nos travaux sur l'expression des caractères de croissance au cours du développement ontogénique ont porté sur le genre *Eucalyptus*. Il apparaît nécessaire de mieux décrire ce genre qui aujourd'hui, au même titre que les peupliers pour le monde tempéré, est devenu un genre "modèle" pour le monde tropical et sub-tropical.

Les eucalyptus sont originaires pour la majorité des espèces d'Australie et pour quelques espèces des îles du sud est asiatique. On compte environ 550 espèces et sous espèces montrant une grande variabilité en termes de morphologie (des grands arbres de 70 m aux buissons) et de niches écologiques (des forêts sempervirentes aux déserts australiens).

L'évolution en Australie au cours des millions d'années, à partir de forêts humides puis sous des conditions environnementales extrêmes, humides et fertiles puis sèches et peu fertiles, a sans doute permis aux eucalyptus d'acquérir des gènes et des mécanismes d'adaptation remarquables (Eldridge *et al.* 1993). Citons ce qui caractérise bon nombre d'espèces :

- une production importante de graines sèches de petites dimensions permettant de résister plusieurs années à des conditions non optimales de germination,
- la présence de bulbes à la base de la tige appelés "lignotubers" contenant des réserves et de nombreux bourgeons permettant de produire de nouvelles pousses si la tige principale est détruite. Cet organe assure aussi le développement des racines lors de l'installation des jeunes semis,
- des pousses indéfinies et des bourgeons nus permettant à l'arbre de pousser tant que les conditions favorables sont réunies, des bourgeons subsidiaires prenant le relais si le bourgeon principal est détruit,
- une écorce épaisse résistante au feu,
- un système racinaire très fortement développé permettant une alimentation hydrique très profonde et établissant très facilement des symbioses avec des ectomycorhizes quel que soit le milieu,
- un contrôle génétique des rythmes de croissance leur permettant de réagir aux événements pédoclimatiques favorables et défavorables,
- un contrôle strict des stomates,
- une faible allocation de biomasse dans le houppier et un faible indice de surface foliaire permettant de limiter l'évapotranspiration,
- une bonne efficacité d'utilisation de l'eau et des éléments nutritifs,
- des transferts internes importants : des migrations d'éléments nutritifs à l'intérieur des tissus et entre les tissus permettant aux arbres de mobiliser fortement les éléments minéraux vers les zones cambiales,
- une forte capacité de stockage des éléments nutritifs et de réallocation.

Ces particularités biologiques, associées à une facilité de bouturage et une croissance rapide, ont favorisé l'essor du genre dans les plantations forestières de la zone tropicale (Bouvet 1999). Entre 15 et 20 millions d'hectares sont aujourd'hui plantés pour le bois d'énergie ou le bois de pâte et les perspectives d'augmentation des surfaces sont importantes, compte tenu de la demande en énergies renouvelables. La majorité des plantations se réalise selon des procédés industriels et utilise des variétés clonales produites à l'issue de schémas d'amélioration génétique.

Une importante recherche internationale en génétique (mais aussi en physiologie et écophysiologie) s'est développée avec les principales espèces du genre touchant les questions suivantes (Poke, 2004):

- compréhension de la part des effets génétiques dans l'expression des phénotypes,
- l'architecture des caractères par une approche moléculaire et quantitative (carte génétique, recherche de QTL),
- relation gène phénotype par le développement des techniques de la génomique.

Le séquençage du génome d'eucalyptus est aujourd'hui en cours et plusieurs équipes développent des programmes sur la recherche des gènes de la xylogénèse ou impliqués dans le stress hydrique, la résistance au froid ou la résistance aux parasites (Myburg *et al.*, 2004).

1.2.1 - Evolution des composantes de la variance au cours de la croissance

L'hypothèse que propose Franklin n'a pas été vérifiée systématiquement. En effet ce modèle a été testé chez plusieurs espèces avec des résultats partagés entre approbation et rejet (Bouvet et Vigneron, 1995). Ceci est principalement lié à l'échantillon de la population (souvent très limité) et à la période de croissance prise en compte. Pour les expérimentations forestières servant à la sélection des génotypes, les mesures utilisées pour tester le modèle se situent dans la phase II, la période très juvénile ne présentant pas d'intérêt pour le sélectionneur et la période de sénescence du peuplement n'étant jamais atteinte. Par ailleurs, étant basées sur des descendance libres (supposées composées de demi-frères), ces analyses n'ont donné qu'une vision très partielle de l'expression de la variance car elles ne prenaient en compte que la variance additive.

Les premières analyses avec les hybrides d'eucalyptus ont apporté une vision plus large par la décomposition de la variance génétique en variance additive et de dominance (Bouvet et Vigneron, 1995 ; 1996). Elles ont montré que la variance de dominance suivait une trajectoire proche de celle de la variance additive pour les caractères de croissance tels que la circonférence et la hauteur totale (Bouvet et Vigneron, 1995).

Les données plus récentes et plus globales basées sur un échantillon conséquent, 9 plans de croisements factoriels, 609 familles hybrides de pleins frères et 35000 individus, permettent de rendre compte plus globalement des tendances (Vigneron et Bouvet, en préparation). Les figures 9a et b montrent tout d'abord la dynamique de croissance en hauteur et circonférence des hybrides

La figure 10a montre que, pour la hauteur, la variance croît avec l'âge après une phase d'évolution lente dans la période juvénile (ceci est mis en évidence pour la hauteur pour laquelle nous possédons les mesures à l'état très juvénile), puis une phase d'augmentation plus marquée se prolongeant par une évolution constante. La troisième phase du modèle de Franklin ne semble pas se dessiner mais l'intervalle de mesure (de 0 à 80 mois) est probablement trop court pour observer un éventuel déclin. Le coefficient de variation ne montre pas de tendance marquée avec l'âge pour les différentes composantes de la variance (figure 10b) même si l'ajustement souligne un maximum vers l'âge de 40 mois le nombre de point au-delà de 40 mois est trop faible pour démontrer une tendance marquée. L'évolution des variances et coefficients de variation pour la circonférence montre les mêmes tendances (Figures 10c et d).

Figure 9 : Croissance hauteur et circonférence chez *E.urophylla*grandis*. Données issues de l'analyse de 9 plans de croisements factoriels représentant 72 arbres mères, 88 arbres pères, 609 familles de pleins frères et 35000 individus mesurés (Modélisation par la fonction polynôme de degré 2) (Vigneron et Bouvet, en préparation)

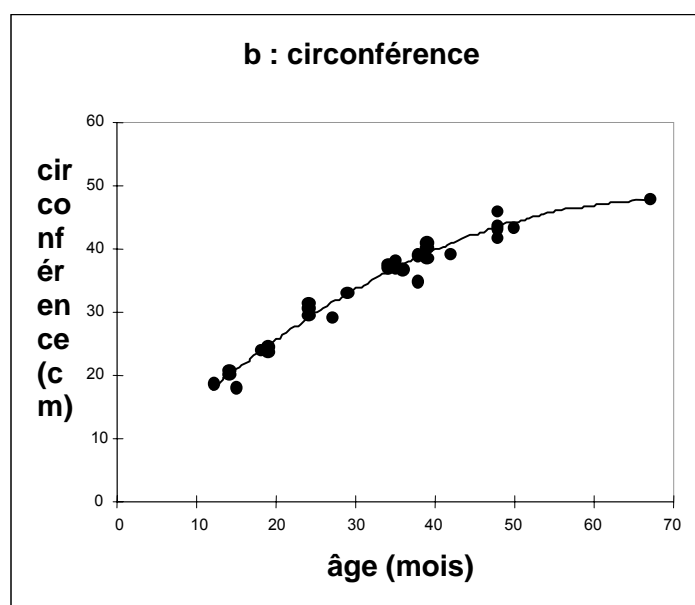
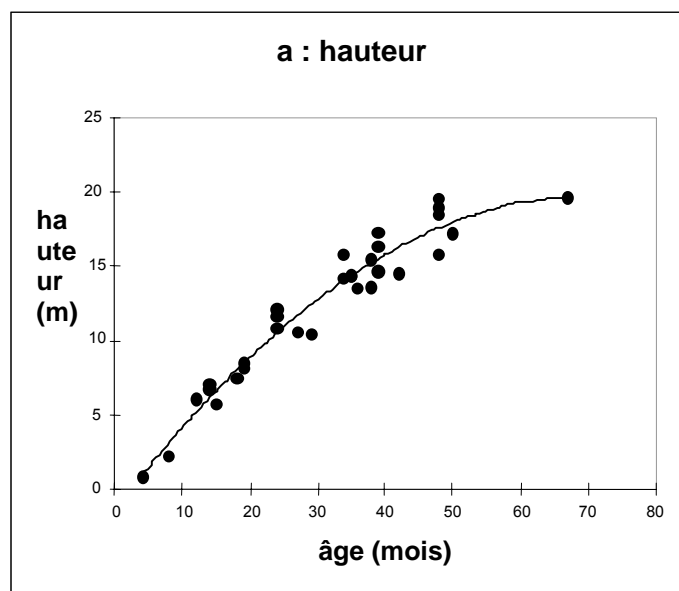
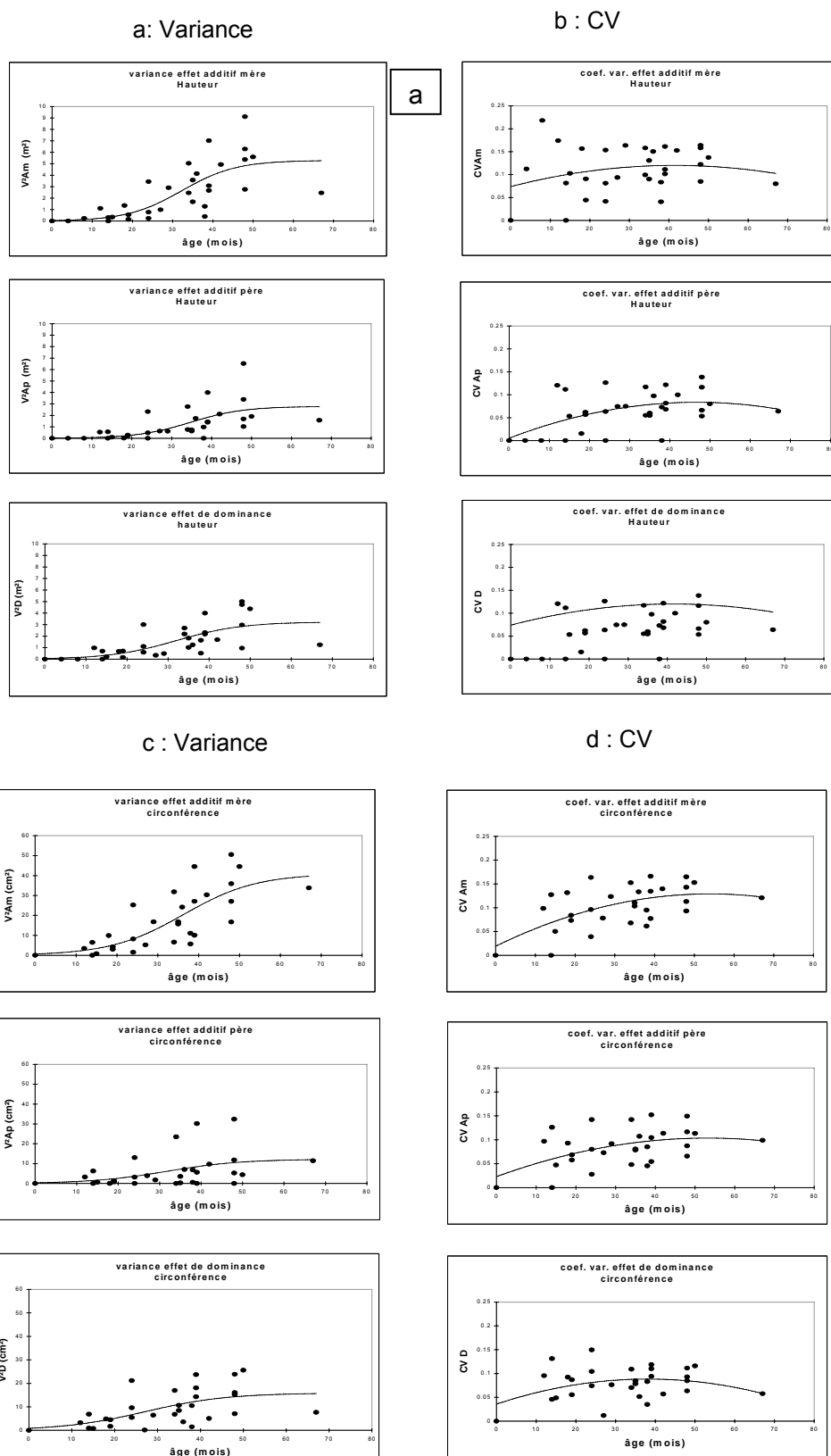


Figure 10 : évolution des variances et des coefficients de variation génétiques avec l'âge chez *E.urophylla*grandis*. Données issues de l'analyse de 9 plans de croisements factoriels représentant 72 arbres mères, 88 arbres pères, 609 familles de pleins frères et 35000 individus mesurés (Modélisation par la fonction non linéaire à 3 paramètres) (Vigneron et Bouvet, en préparation). V^2_{am} : variance des effets additifs du parent mâle, V^2_{af} : variance des effets additifs du parent femelle, V^2_D : variance des effets de dominance
c : hauteur, d : circonférence



Evolution du rapport de variances avec l'âge

La part de la variance additive dans la variance génétique totale est une des questions abordées dans les modèles de génétique quantitative appliqués aux espèces végétales et animales. Les résultats sont nombreux pour les espèces de grande culture, généralement annuelles mais restent encore limités pour les espèces pérennes notamment au cours du développement. Pour les espèces annuelles, les études montrent que la part de la variance additive est prépondérante pour les caractères de morphologie de la plante alors de la variance de dominance s'exprime plus fortement pour les caractères de rendement (Gallais, 1991). De plus la part des effets additifs diminue au fur et à mesure des cycles de sélection laissant une place prépondérante aux effets de dominance.

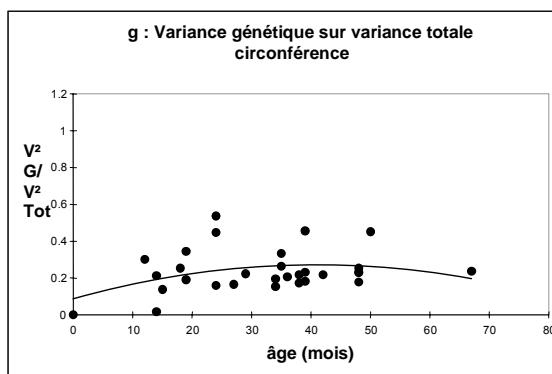
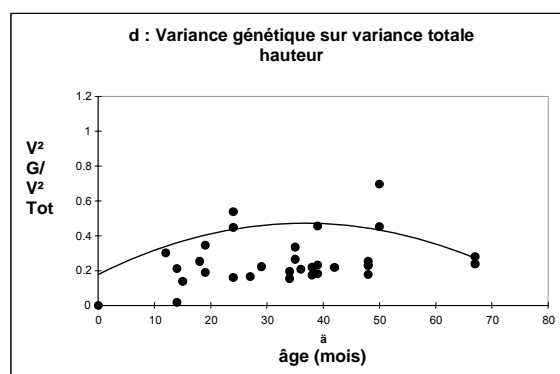
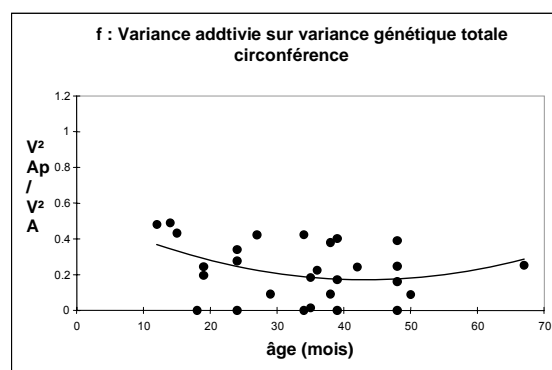
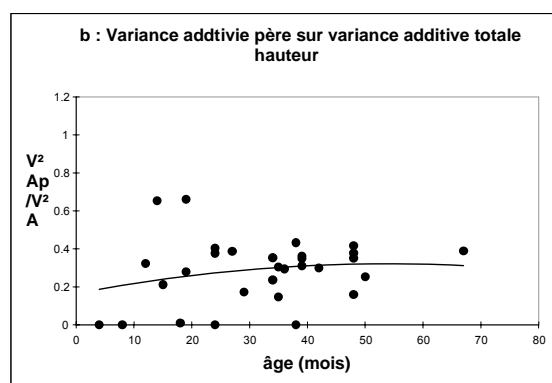
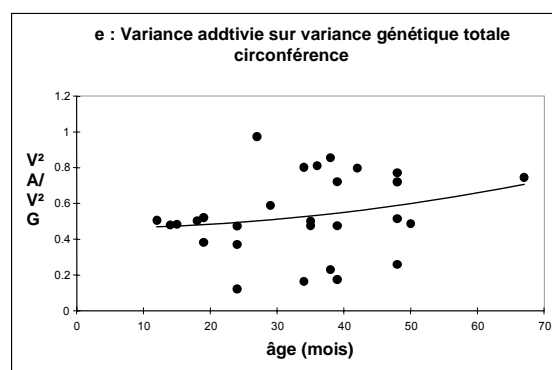
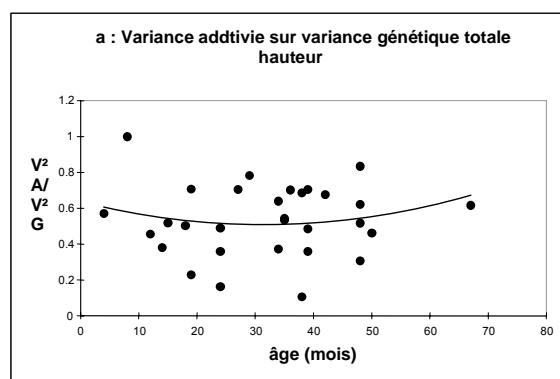
Les quelques résultats pour les espèces forestières montrent que la part de la variance additive est généralement prépondérante dans la variance génétique totale pour les caractères de croissance : par exemple chez les genres *Pinus* (Kremer, 1981; Cotterill *et al.*, 1987 ; Ballochi *et al.*, 1993) et *Eucalyptus* (Volker, 1995; Costa e Silva *et al.*, 2004). Les résultats plus récents basés sur un échantillon plus large parviennent aux mêmes conclusions, par exemple pour *Pinus taeda* (Gwaze *et al.*, 2002).

En ce qui concerne l'évolution avec l'âge du rapport de variance additive et variance de dominance, peu de résultats sont disponibles et ces derniers sont très variables. Chez le genre *Pinus* on observe une forte augmentation du rapport σ^2_A/σ^2_D avec l'âge pour certaines expériences (Ballochi *et al.*, 1993) et une évolution stable pour d'autres (Dieters *et al.*, 1995; Gwaze *et al.*, 2002).

Les premiers résultats obtenus au Congo faisaient apparaître une part importante de la variance additive, 70% pour l'hybride *E.urophylla*grandis*. (Bouvet et Vigneron, 1996). La synthèse des résultats obtenus pour ce même hybride avec un échantillonnage plus conséquent fait apparaître un ratio différent, la part de la variance additive représente 53% de la variance totale en moyenne pour la hauteur et pour la circonférence (Figures 11 a et e). Ceci peut s'expliquer par une évolution de l'échantillon de la population parentale notamment chez *E.urophylla*. Lors des premiers plans de croisements factoriels (implantés en 1989, 1990 et 1991), les parents étaient peu sélectionnés sur leur valeur phénotypique, les arbres de bordures de parcelles étaient sélectionnés car ils fleurissaient abondamment. Pour les plans suivants, la technique du greffage et de palissage a permis de mobiliser des géniteurs sélectionnés sur leur forme, leur croissance et leur adaptation, homogénéisant les populations parentales. Cette base génétique plus étroite de la population parentale pourrait être la cause d'une variance additive plus faible que celle estimée dans les premiers plans compte tenu de la bonne corrélation entre valeur phénotypique des parents et valeur en croisement hybrides (Bouvet et Vigneron, 1996).

Figure 11 : évolution des rapports de variance avec l'âge : part de la variance additive dans la variance génétique totale, part de la variance additive due aux effets paternels par rapport à la variance additive totale et part de la variance génétique dans la variance totale pour la hauteur (a, b et c) et la circonférence (e, f et g). Modélisation par la fonction polynomiale (Vigneron et Bouvet en préparation)

V^2_A : variance des effets additifs, V^2_{Ap} : variance des effets additifs du parent mâle, V^2_D : variance des effets de dominance, V^2_G : variance des effets génétiques totaux, V^2_{tot} : variance totale (génétique + environnement)



La figure 11 ne montre pas de différence très marquée pour les deux caractères. Le rapport σ^2_A/σ^2_G reste relativement constant pour la hauteur (figure 11a) et la circonférence augmente légèrement (figure 10e). On aurait pu s'attendre à une différence d'expression des variances due aux effets de compétition qui affectent plus fortement la circonférence ; cette différence pourrait s'exprimer plus tardivement. On notera pour ces populations la prépondérance de la variance due aux effets maternels, le rapport σ^2_{Ap}/σ^2_A étant en moyenne inférieur à 0.5 (Figure 11 b et f). Ceci résulte de la base génétique étroite de la population d'*E. grandis* au sein de laquelle les géniteurs pères ont été sélectionnés. Les effets environnementaux restent prépondérants, $\sigma^2_G/\sigma^2_{tot}$ est inférieur à 0.5, notamment pour la circonférence, caractère plus sensible à la compétition (figures 11d et g).

▪ Conclusion

Les eucalyptus à croissance rapide semblent répondre au modèle proposé par Franklin quant à l'expression des variances avec des différences dues à un démarrage rapide et une phase de sénescence que nous n'avons pas encore observée dans nos essais mais qui doit se manifester à terme. Le modèle de Franklin retrace en fait sous la forme d'évolution des variances, les différentes phases de vie d'un peuplement forestier en condition de plantation.

La particularité de nos recherches réside dans la décomposition de la variance génétique en variance additive et variance de dominance sur la base d'un échantillon conséquent supérieur à celui habituellement observé chez les *Eucalyptus* et autres genres. Nous ne remarquons pas de différence particulière dans la forme des courbes d'évolution des effets de dominance avec l'âge par rapport aux effets additifs tels qu'ils sont modélisés par l'équation classique de la génétique quantitative. La part de la variance de dominance par rapport à la variance additive est stable et dépend fortement de la base génétique de la population parentale. Elle semble prépondérante avec un échantillon des parents représentatifs de la variabilité en population naturelle mais s'équilibre rapidement dans les populations d'amélioration dès lors que les parents sont sélectionnés sur leur valeur propre. L'absence d'évolution différente des rapports de variance souligne un fonctionnement stable dans la période concernée par nos mesures. Des mesures très rapprochées lors de la phase d'installation du peuplement ou lors de la phase de sénescence pourraient montrer une évolution des rapports de variance avec l'âge.

Notre étude d'expression de la variance des caractères de croissance a été complétée par l'apport des outils de la biologie moléculaire. Après la réalisation des cartes génétiques d'*Eucalyptus urophylla* et d'*Eucalyptus grandis* et de la carte consensus (Verhaegen et Plomion, 1996), des recherches sur l'architecture des caractères quantitatifs ont été initiées chez les eucalyptus.

L'approche QTL a permis de disséquer l'architecture des caractères au cours du développement (Verhaegen *et al*, 1997). Les premiers résultats ont montré qu'un nombre restreint de QTLs pouvait expliquer une part importante de la variation (20%) ceci avec une descendance comportant 200 individus. Il semble que le modèle stipulant que les caractères quantitatifs sont gouvernés par un nombre restreint de gènes à effets majeurs et d'un nombre important de gènes à effets mineur soit validé par ces études de QTLs.

D'autres études ont suivi dans ce même registre avec les travaux de Gion (2001) et ont montré que les QTLs des caractères de croissances, hauteur et circonférence, étaient différents au cours du développement de l'arbre.

1.2.2 – Compétition inter arbres et expression de la variabilité

Parmi les facteurs environnementaux (micro-environnementaux), la compétition engendrée par la densité d'arbres par unité de surface apparaît comme le plus critique chez les espèces forestières. Les arbres, organismes pérennes dont la position demeure fixe au cours de l'existence, interagissent fortement lors de l'évolution de la densité tout au long de leur développement. Son augmentation revient en fait à une diminution des ressources en eau, en éléments nutritifs et en lumière. Ce type de compétition est considéré comme "size asymmetric", les individus les plus volumineux continuant à recevoir plus de ressources, entraînant ainsi un accroissement des différences et de la variation phénotypique (Evert, 1971; Pierik *et al.*, 2004).

La question que nous avons abordée a pour but de comprendre de quelle façon les effets génétiques et environnementaux sont affectés par une plus forte compétition due à une augmentation de la densité (en relation avec les hypothèses de Franklin (1979) que nous avons évoquée précédemment).

Les études, croisant des entités génétiques et des conditions environnementales dans une expérimentation de long terme au champ, sont rares en génétique forestière. Elles demandent des dispositifs très lourds et coûteux à suivre.

Trois essais ont été mis en place en République du Congo, le premier testant l'effet de deux densités sur une population de 12 familles de pleins frères, le second testant l'effet de trois densités sur 12 clones d'eucalyptus, le troisième testant l'effet des mêmes trois densités sur une population de 16 familles de pleins frères.

Les premiers résultats ont été analysés sur la population de clones 3 années après la plantation (Bouvet, 1997) et une analyse plus globale a été effectuée après une période de croissance plus significative sur l'ensemble des populations (Bouvet *et al.*, 2003).

L'augmentation de la densité affecte la croissance

L'augmentation de la densité affecte fortement la croissance des eucalyptus dans les conditions pédoclimatiques du sud du Congo. Au cours du très jeune âge, avant 12 mois, on observe une croissance en hauteur plus élevée à forte densité (Bouvet, 1997), expliquée par certains auteurs comme une stratégie d'évitement de l'ombrage (Pierick *et al.*, 2004). Par la suite il apparaît clairement que les densités les plus fortes réduisent nettement la croissance en hauteur et en circonférence aussi bien pour des populations structurées en clones (Figures 12a et b) que pour des populations structurées en familles (Figures 12c et d). Ces essais montrent que la hauteur est aussi affectée que la circonférence, réduction de 30% tiges/ha et de 46% de 625 à 2500 respectivement ; des résultats similaires ont été observés pour d'autres espèces d'eucalyptus dans d'autres conditions pédo-climatiques (Patinot-Valera et Kageyama, 1995 ; Brouard et John, 1999). Ce résultat se distingue de celui des espèces tempérées où l'augmentation de la densité affecte surtout la croissance en diamètre et peu la croissance en hauteur dominante (Pardé et Bouchon, 1988).

La densité affecte la variance génétique et la variance environnementale

Les deux principaux dispositifs, comportant des entités génétiques différentes, clones et familles, montrent des résultats très proches (Figures 13 et 14). Si la variance augmente avec l'âge (Bouvet *et al.*, 2003), on note une faible augmentation du coefficient de variation de l'effet famille ou clone au cours de l'âge (Figures 13a, b et 14a, b). Par contre, on note une forte augmentation du coefficient intra famille ou intra clone avec l'âge (Figures 13c, d et 14c, d).

Figure 12 : effet de la densité de plantation sur la croissance en hauteur et en circonférence au sein de populations de clones et de familles ; Illustration au travers d'un échantillon de 4 clones d'*E.tereticornis*grandis* (figures a et b) et de 4 familles d'*E.urophylla*grandis* (figures c et d).

2500 arbres/ha-----
 1111 arbres/ha
 625 arbres /ha

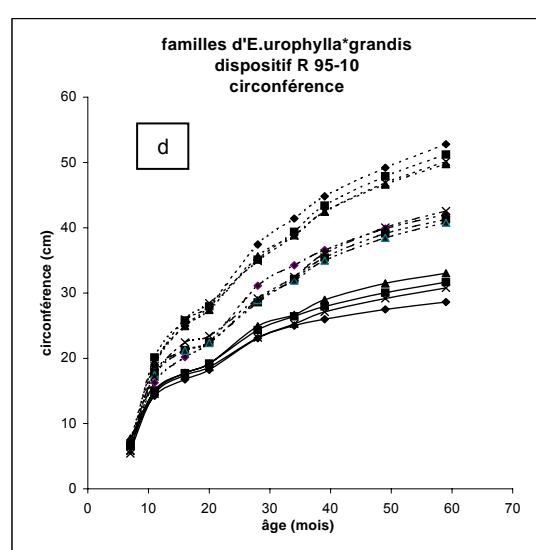
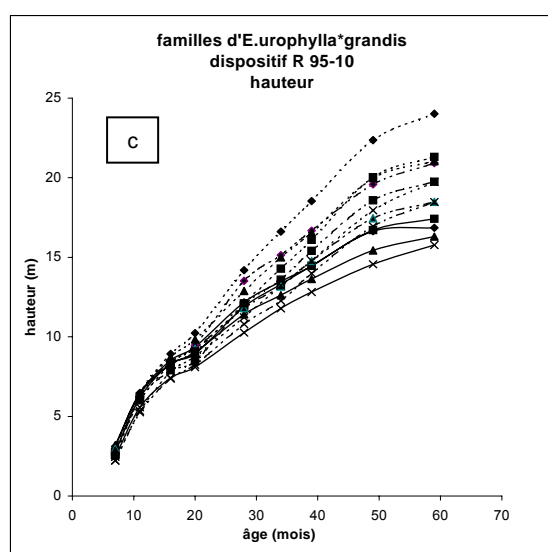
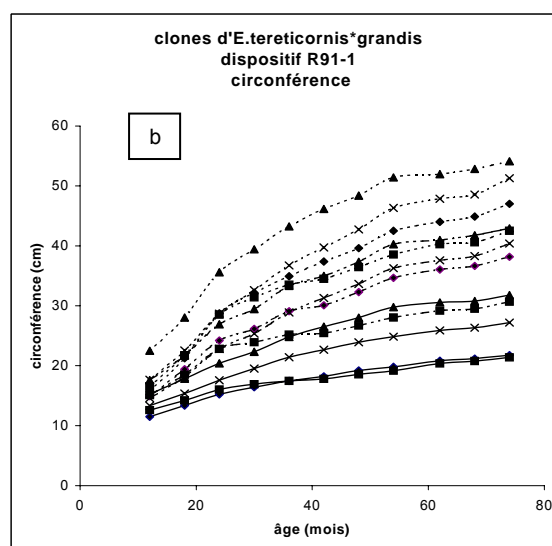
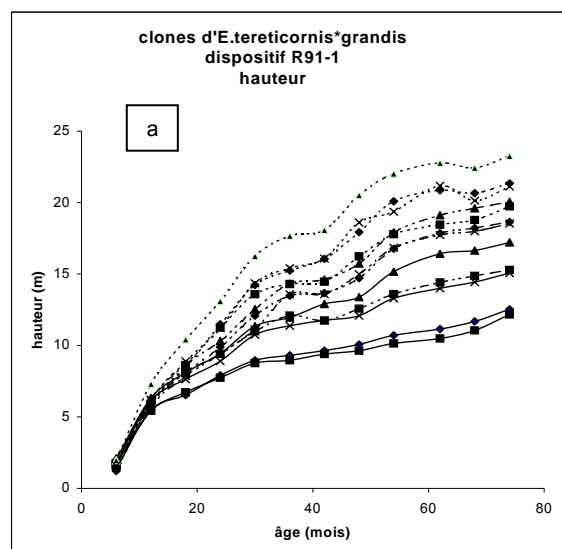


Figure 13 : impact de la densité de plantation sur le coefficient de variation inter et intra clone pour le caractère hauteur et circonférence. Dispositif R91-1 comportant 12 clones d'*E. tereticornis***grandis*

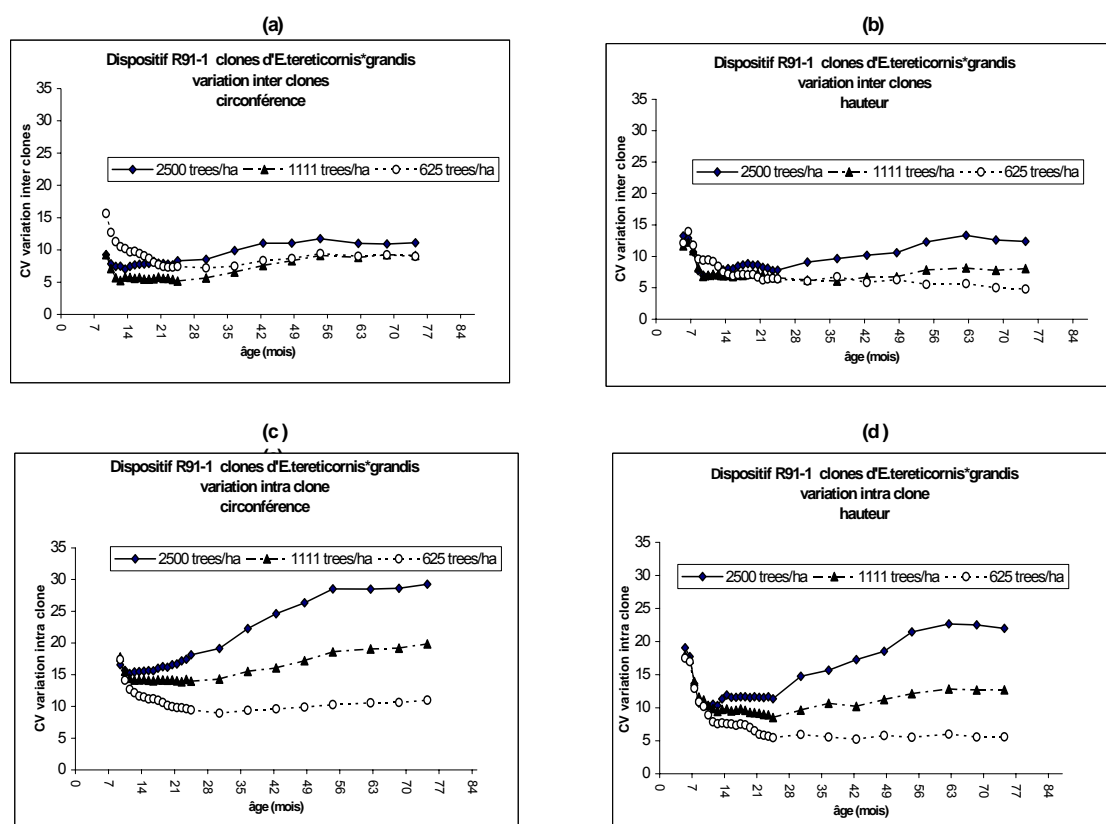
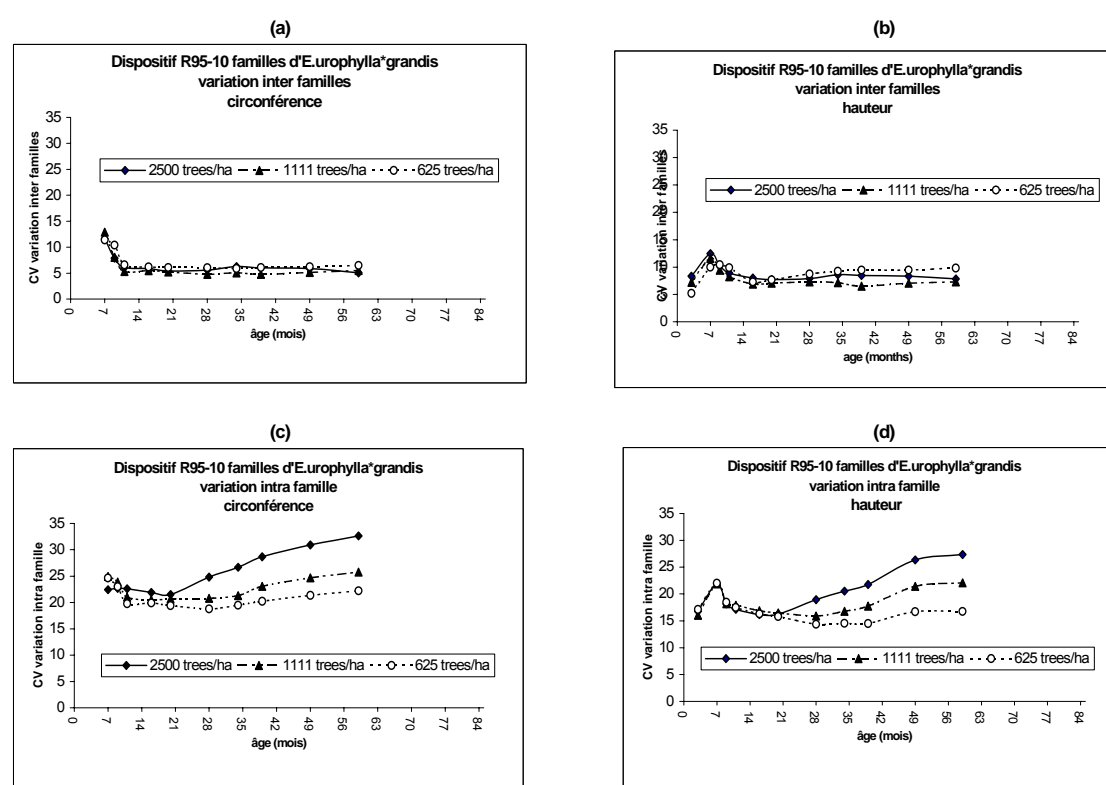


Figure 14 : impact de la densité de plantation sur le coefficient de variation inter et intra clone pour le caractère hauteur et circonférence. Dispositif R 95-10 comportant 16 familles d'*E.urophylla***grandis*



Dans la période de mesure prise en compte, il semble se dessiner deux phases. La première présente une diminution du coefficient de variation ; elle s'observe aussi bien pour la variation inter génotypes que pour la variation intra génotype. La seconde phase apparaît différemment selon le type de variation pris en compte. Dans la cas de la variation intra famille et intra clone, on note une augmentation marquée du coefficient de variation avec l'âge (figures 13c et d et figures 14c et d), par contre dans la cas de la variation inter familles et inter clones, on note un accroissement du coefficient de variation moins marqué pour les clones (figures 13a et b) voire absente pour les familles (figures 14 a et b). Ces deux phases pourraient correspondre à deux niveaux de compétitions distincts au sein du peuplement. Le premier correspondant à l'installation progressive de la compétition, le second au développement en présence de forte compétition.

La durée de ces deux phases semble influencée par la densité ; la première est d'autant plus courte et la seconde est d'autant plus marquée que la densité est forte (Figures 13 et 14). Elle semble aussi être influencée par la structure génétique, famille ou clone, ce phénomène étant plus net pour le dispositif de clones.

Comme le suggérait Franklin (1979) la compétition influence les différentes phases observées au cours de la vie d'une population d'arbres forestiers par une raccourcissement de la première et une augmentation des variance intra génotype au cours de la seconde.

Augmentation de la densité et corrélations entre les caractères de croissance

Ces mêmes expériences ont permis de tester l'impact de la compétition sur la corrélation entre les caractères. Cet aspect a été abordé chez des plantes annuelles comme le riz (Kawano et Hara, 1995) et *Tagetes patula* (Weiner et Thomas, 1992). Ces auteurs ont montré qu'une densité plus élevée augmente le nombre de corrélations phénotypiques significativement différentes. Les expérimentations forestières abordant l'impact de la compétition ou de la diminution des ressources sur les corrélations environnementales et génétiques sont encore une fois très rares. A notre connaissance, seuls Wu et Settler (1998) ont montré chez le peuplier un accroissement des corrélations dans des environnements limités en ressources.

Dans nos études nous avons analysé la corrélation génétique et environnementale entre la hauteur et la circonférence à différents âges (Bouvet *et al.*, 2005). La corrélation liée aux effets environnementaux (corrélation intra clone et la majorité de la corrélation intra famille) est positive et élevée. Elle n'est pas affectée par la densité et apparaît constante avec l'âge du peuplement (Figures 15a et 15c).

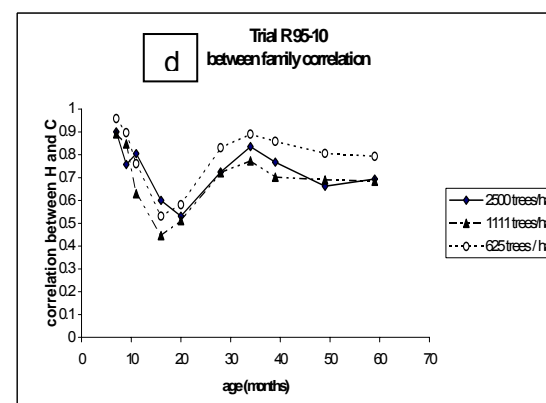
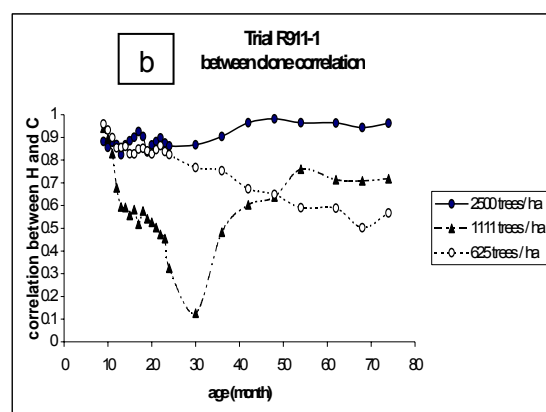
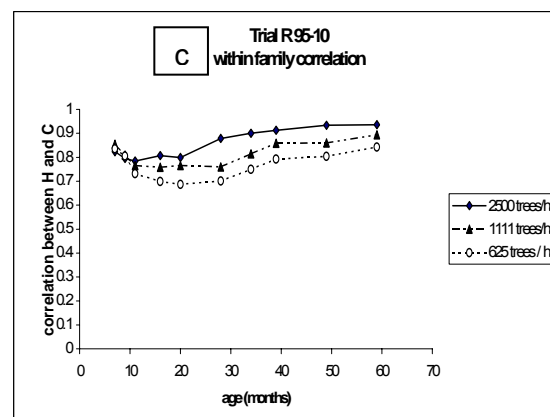
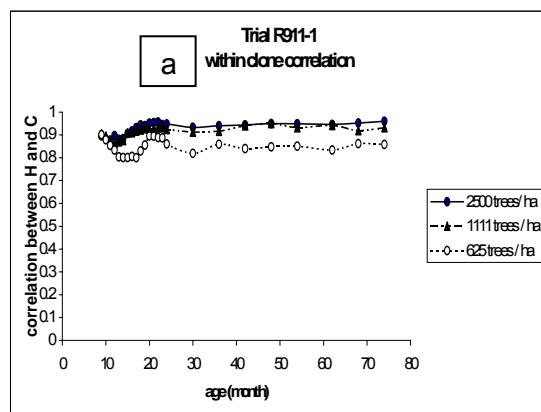
Par contre la corrélation génétique évolue avec l'âge et semble fortement affectée par la densité pour le dispositif de clones. Elle reste positive, résultat connu chez les espèces forestières (Zobel et Talbert, 1984). La plus part des études de génétique quantitative a évoqué l'effet de pléiotropie des gènes qui a été soutenu par les études moléculaires mettant en évidence des zones communes du génome (QTL) dans l'expression de la variation de ces caractères (Verhaegen, 1997; Gion, 2001). Les résultats confortent les théories de développement des plantes selon lesquelles une forte corrélation est maintenue entre caractères liés sur le plan fonctionnel (Murren, 2002; Preston et Ackerly, 2003) et les modèles de génétique évolutive suggérant que la sélection agit de façon à maintenir une corrélation positive entre caractères liés sur le plan fonctionnel (Hartl et Clark, 1997).

L'évolution de la corrélation génétique avec l'âge peut être interprétée comme si le contrôle génétique de la hauteur et celui de la circonférence étaient dissociés durant la phase d'entrée en compétition et se rétablissait par la suite selon un schéma différent en fonction de la densité. Bouvet *et al.* (2005) ont proposé un modèle d'action des gènes : pendant la phase d'entrée en compétition, les gènes contrôlant la croissance en hauteur sont très actifs afin que chaque génotype optimise l'accès à la lumière. Quand les arbres atteignent une taille critique

Figure 15 : impact de la densité de plantation sur le coefficient de corrélation inter et intra génotype pour le caractère hauteur et circonférence. (Bouvet *et al.*, 2005)

a et b : Dispositif R91-1 comportant 12 clones d'*E. tereticornis***grandis*

c et d : Dispositif R 95-10 comportant 16 familles d'*E. urophylla***grandis*



en terme de stabilité, les gènes contrôlant la croissance en circonférence sont plus actifs et leur activité est alors mieux coordonnée à celle des gènes codant pour la hauteur. Ce changement d'activité des gènes pouvant entraîner des changements de co-expression est appuyé par l'analyse des QTLs au cours du temps. Il a été démontré que ceux de la circonférence et de la hauteur changeaient au cours de la croissance (Gion, 2001).

Augmentation de la densité et corrélation âge-âge

La compétition affecte-t-elle les corrélations entre des âges différents pour un même caractère. Pour les clones la corrélation génétique est plus forte à 2500 tiges/ha mais les différences restent non significatives (figures 16a et c). Les corrélations génétiques inter familles ne montrent ni de différences marquées entre les densités ni une supériorité des corrélations âge-âge à 2500 tiges/ha (figures 17a et c). Les corrélations intra familles et intra clones dues principalement à des effets environnementaux montrent de plus fortes valeurs à 2500 t/ha mais non significatives (figures 16b et d et figures 17b et d).

Nous avons comparé les matrices de corrélation âge-âge entre les différentes densités par le test de Mantel (Manly, 1997). Le test n'est pas significatif pour l'ensemble des comparaisons et ne permet pas de rejeter l'hypothèse nulle de non différence entre les matrices de corrélation (tableau 11). Les différences entre les matrices de corrélation âge-âge semblent cependant marquées lorsqu'on compare la densité 2500 tiges/ha à 625 tiges/ha avec des valeurs de coefficient de corrélation nettement différente de la valeur 1 (tableau 11). Les matrices de corrélations génétiques inter familles et inter clones semblent plus affectées par l'augmentation de la densité que les matrices de corrélations intra famille ou intra clone. La différence entre les deux dispositifs (famille et clone) est attribuable à de nombreux facteurs confondus (espèces, échantillons, structure de la population) et reste délicate à interpréter.

Tableau 11 : effet de la densité sur la matrice de corrélation âge-âge pour les effets résiduels et les effets génétiques (familles ou clones). Comparaison des matrices âge-âge par le test de Mantel (Manly, 1997): coefficient de corrélation entre matrices et probabilité associée à H_0 = absence de corrélation entre les matrices (entre parenthèses)

Dispositif clone R 91-1							
	Effet résiduel intra clone				effet génétique inter clones		
		2500	1111	625	2500	1111	625
hauteur	2500	1			1		
	1111	0.958 (0.000)	1		0.781 (0.000)	1	
	625	0.888 (0.000)	0.958 (0.000)	1	0.521 (0.000)	0.825 (0.000)	1
circonférence	2500	1			1		
	1111	0.947 (0.000)	1		0.856 (0.000)	1	
	625	0.901 (0.000)	0.969 (0.000)	1	0.832 (0.000)	0.865 (0.000)	1
Dispositif famille R95-10							
	Effet résiduel intra famille				effet génétique inter familles		
		2500	1111	625	2500	1111	625
hauteur	2500	1			1		
	1111	0.952 (0.000)	1		0.798	1	
	625	0.946 (0.000)	0.978 (0.000)	1	0.688 (0.001)	0.688 (0.000)	1
circonférence	2500	1			1		
	1111	0.735 (0.000)	1		0.451 (0.001)	1	
	625	0.493 (0.005)	0.499 (0.004)	1	0.265 (0.045)	0.814 (0.000)	1

Figure 16 : impact de la densité de plantation sur le coefficient de corrélation âge-âge inter et intra clone pour le caractère hauteur (figures 14 a et b) et circonférence (figure 14 c et d). Dispositif R91-1 comportant 12 clones d'*E. tereticornis***grandis*

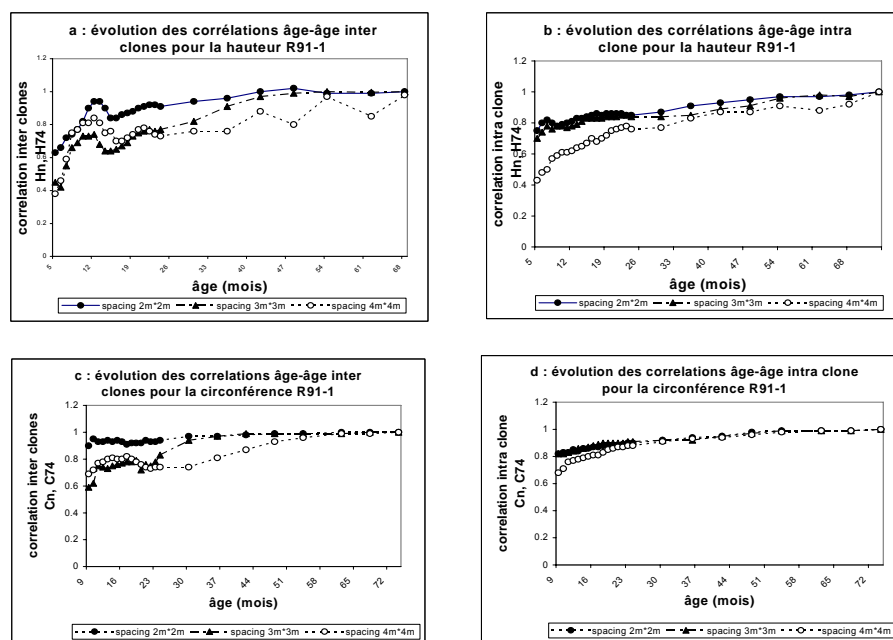
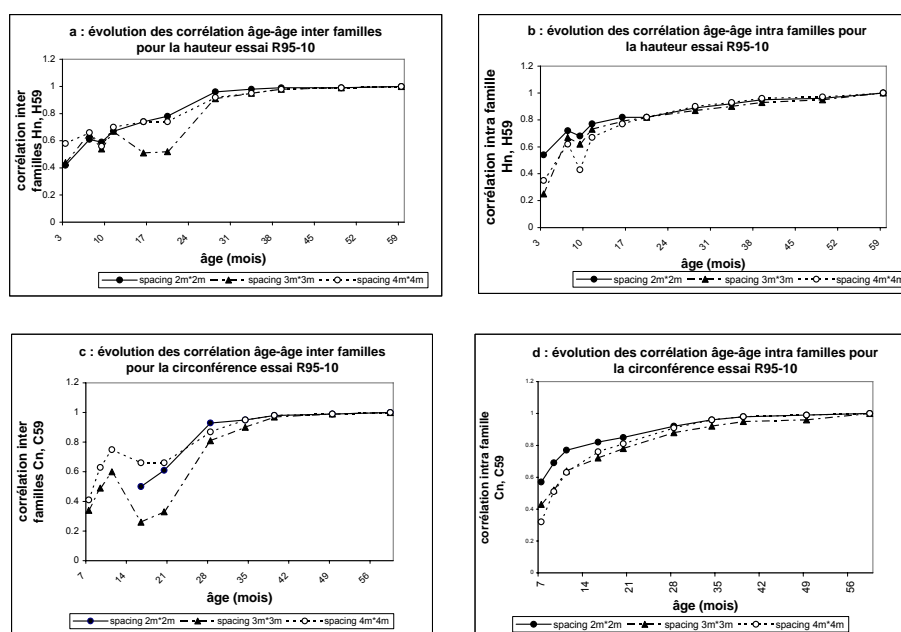


Figure 17 : impact de la densité de plantation sur le coefficient de corrélation âge-âge inter et intra famille pour le caractère hauteur (figures 14 a et b) et circonférence (figure 14 c et d). Dispositif c et d : Dispositif R 95-10 comportant 16 familles d'*E. urophylla***grandis*



Le fonctionnement des gènes entre deux stades de développement pourrait donc être affecté aussi par la compétition. Nous n'avons pas d'étude comparable chez les espèces forestières. Les études montrant que des QTLs différents s'expriment au cours de la croissance (Gion 2001) pourraient conforter l'hypothèse que la compétition peut agir différemment sur l'expression des gènes d'un individu à l'autre compte tenu des régions chromosomiques différentes s'exprimant lors de la croissance.

▪ *Conclusion*

Les effets de la compétition mettent en évidence de façon plus nette que les expériences précédentes deux phases dans le jeune âge, résultat qui rejoint le modèle de Franklin (la phase de juvénilité et celle de maturité). L'analyse des matrices de corrélation n'est pas aussi concluante concernant ce modèle. Même si on note un effet de la densité sur la valeur des corrélations, nos résultats ne montrent pas de façon claire et systématique de valeur plus élevée de la corrélation âge-âge due à un raccourcissement de la phase de juvénilité.

Nos expérimentations nous ont permis d'aborder de façon très partielle l'impact de l'environnement sur la corrélation entre caractères (relevant du concept d'intégration phénotypique dont nous donnons plus de détail dans le paragraphe suivant). Au sein du module « axe A0 » (tronc) nous avons constaté que la compétition pouvait changer la corrélation génétique entre la hauteur et la circonférence au cours du développement. La compétition pouvait conduire à un fonctionnement plus indépendant des gènes gouvernant les méristèmes de croissance en hauteur et en diamètre ; dans ce cas aussi les phénomènes de régulations des gènes pourraient être à l'origine de l'évolution des corrélations des caractères au cours de la croissance. Nous avons interprété cette évolution par un modèle de fonctionnement des gènes qu'il sera nécessaire de confirmer par d'autres approches faisant appels aux outils de la biologie moléculaire.

1.2.3 - Compétition inter arbres et plasticité phénotypique

La plasticité phénotypique, c'est à dire la capacité à changer de phénotype en fonction de l'environnement, est reconnue comme une stratégie permettant aux plantes de maximiser ou de maintenir leur fitness (valeur sélective) au cours de l'évolution de l'environnement (Schlichting et Pigliucci, 1998 ; Wright et McConnaughay, 2002). Bien que ce concept ait été abordé depuis plusieurs années pour les espèces annuelles, il existe peu de résultats pour les espèces pérennes.

Il existe une relation directe entre le modèle de base développé par la génétique quantitative et le concept de plasticité. En génétique quantitative la valeur phénotypique est modélisée de la façon suivante: $P = G + E + G \times E$; P est le phénotype pour le caractère considéré, G est le génotype calculé en général comme la valeur moyenne des phénotypes sur tous les environnements, E est l'effet environnemental perçu comme la valeur de la plasticité par les écologues fonctionnels, $G \times E$ est l'interaction génotype*environnement qui se traduit par le fait que la plasticité est gouvernée par les gènes.

Les expériences relatives à l'impact de la densité sur l'expression de la variabilité nous ont permis d'étudier la plasticité des eucalyptus tropicaux. Nous avons cherché à savoir s'il existait une base génétique pour la plasticité de la croissance pour les caractères circonférence et hauteur en nous basant sur les deux expériences évoquées précédemment (R91-1 et R95-10). Pour les espèces forestières le contrôle génétique de la trajectoire de croissance a été

démontré chez plusieurs espèces (Namkoog et Conckle, 1976 ; Bouvet, 1991; Danjon, 1994) mais n'a pas été abordé sous l'angle de la plasticité et de son contrôle génétique.

Pour étudier la plasticité de la croissance nous avons couplé le modèle ci-dessus à un effet âge. Nos résultats ont montré une forte interaction âge*densité*clone ($P < 0.0001$), soulignant que la plasticité de la trajectoire de croissance est sous contrôle génétique (tableau 12). Ce résultat n'est pas observé pour les familles bien que la probabilité associée soit proche du seuil de significativité pour la circonférence ($P = 0.0862$) (tableau 12). Deux explications à cette différence entre clones et familles sont envisagées (Bouvet *et al.*, 2005) : la première a trait à la base génétique des familles, plus large que celles des clones et permettant donc de mieux tamponner les effets de changements environnementaux, hypothèse souvent formulée lors des essais traitant l'interaction génotype*environnement (Gallais 1991). La seconde concerne le niveau d'effets non additifs (épistasie et dominance) plus important chez la population structurée en clones que chez la population structurée en familles. En effet la variance estimée inter clones ($\sigma^2_G = \sigma^2_A + \sigma^2_D$) est plus importante que la variance inter familles ($\frac{1}{2} \sigma^2_A + \frac{1}{4} \sigma^2_D$), toute chose étant égale par ailleurs. Plusieurs auteurs ont en effet suggéré que les effets d'épistasie pourraient expliquer le contrôle génétique de la plasticité. Blows et Sokolowski (1995) ont souligné que les effets non additifs pouvaient s'exprimer plus fortement dans les environnements extrêmes et Pigliucci (2003) a suggéré notamment que les effets non additifs et les éléments de régulation pouvaient jouer un rôle déterminant dans la génétique du développement. La structure de la population en clones pourrait permettre aux effets non additifs qui jouent un rôle dans le contrôle génétique de la plasticité d'être mieux estimés.

Tableau 12: analyse de variance avec mesures répétées pour les dispositifs R91-1 population de 12 clones (a) et R95-10 populations de 16 familles (b) pour la hauteur et la circonférence. Test multivarié testant H_0 : absence d'effet (Wilk's λ , F-test et Probabilité associée). (Bouvet et al, 2005)

Source of variation	Hauteur			Circonférence		
	Wilk's λ	F	P	Wilk's λ	F	P
(a) R91-1Clone						
âge	0.001	3812.7	0.0001	0.003	1369.1	0.0001
âge*densité	0.0001	46.83	0.0001	0.0006	27.47	0.0001
âge*clone	6×10^{-6}	2.89	0.0001	8×10^{-6}	3.5	0.0001
âge*densité*clone	0.002	2.22	0.0001	0.004	2.19	0.0001
(b) R 95-10 familles						
âge	0.002	3989.4	0.0001	0.0043	2264.9	0.0001
âge*density	0.008	24.7	0.0001	0.0038	38.19	0.0001
âge*famille	0.000	4.05	0.0001	0.0004	2.85	0.0001
âge*densité*famille	0.083	1.09	0.217	0.072	1.16	0.0862

Cette première analyse démontre une forte plasticité de la croissance chez ces eucalyptus mais doit être étendue à d'autres caractères afin de mieux décrire leur fonctionnement face aux changements environnementaux. Ce point sera repris dans notre projet de recherche (voir 2.1). Sur le plan évolutif, nos résultats suggèrent que les eucalyptus tropicaux sont très plastiques et présentent une expression génétique leur permettant de répondre aux changements de l'environnement tel que la réduction des ressources en eau, en éléments minéraux et en lumière par une augmentation de la densité.

Ceci s'ajoute à la liste des caractéristiques que certaines espèces d'eucalyptus ont développées et qui leur permettent d'augmenter leur fitness face aux impacts négatifs de l'environnement

(encadré 1). Nos conclusions sont en accord avec les résultats ayant démontré que les eucalyptus sont généralistes sur le plan écologique et montrent une forte plasticité (Specht, 1996)

1.2.4 – Approche multi caractères ; intégration phénotypique

Nos analyses multi caractères nous permettent d'aborder les questions relevant du concept d'intégration phénotypique. L'intégration phénotypique, à l'origine (Olson et Miller, 1958 selon Pigliucci, 2003), peut se définir génériquement comme l'interdépendance des caractères morphologiques au sein d'un organisme organisé et fonctionnel. Nous mesurons cette interdépendance par le coefficient de corrélation phénotypique que nous pouvons décomposer en différents effets (génétique, environnemental, génétique additif etc.). Les premières études sur l'intégration phénotypique chez les plantes ont montré que les corrélations phénotypiques sont plus marquées entre caractères fonctionnellement liés qu'entre caractères fonctionnellement indépendants (Murren, 2002). Par exemple les corrélations entre les pièces florales sont plus élevées que les corrélations entre les pièces florales et l'appareil végétatif (Murren, 2002).

Nous avons replacé nos résultats pour répondre aux questions suivantes :

- Quelle est la part des effets additifs et non additifs dans l'expression des caractères de morphologie, de structure du bois ?
- Quel est le niveau de corrélation génétique et non génétique entre les différents types de caractères (croissance, morphologie, bois)?
- La corrélation entre les caractères est-elle influencée par le niveau de compétition ?

Morphologie de l'arbre

La morphologie des eucalyptus telle que nous l'avons analysée concerne trois caractères : la rectitude du fût, le nombre de ramification d'ordre 1 par unité de longueur du tronc (le tronc étant l'ordre zéro) et la présence de fourches. Ces caractères sont mesurés par des variables discrètes ou des comptages. L'analyse des premiers plans de croisement a permis d'aborder l'expression de la variance génétique de ces caractères. Chez les espèces forestières, comme chez les plantes en général, les effets additifs sont généralement prépondérants $\sigma^2_A/\sigma^2_G > 0.50$ (Gallais, 1991). Ce résultat a été observé dans nos expérimentations (Bouvet, 1999) (Tableau 13) et chez d'autres espèces d'eucalyptus (Costa e Silva *et al.*, 2004)

De façon générale chez les plantes annuelles, les caractères de morphologie sont génétiquement peu corrélés aux caractères de croissance et de rendement (Gallais, 1991). Ce résultat se retrouve dans nos expérimentations (Bouvet, 1995a; Bouvet et Baillères, 1995) dans les faibles corrélations génétiques entre croissance et rectitude du tronc, ramification et épaisseur d'écorce. L'originalité de notre approche a consisté à décomposer la corrélation phénotypique en composante additive, de dominance et environnementale (Bouvet, 1995). Les corrélations additives et de dominance présentent des valeurs faibles non significatives. Les corrélations environnementales sont aussi faibles mais en général positives ; une amélioration de la croissance (fertilisation par exemple) devrait donc améliorer la rectitude par contre favoriserait la ramification, critère qui n'est pas toujours recherché des sylviculteurs.

Par ailleurs nous avons cherché à mesurer la façon dont évoluait la morphologie de l'arbre au cours de la croissance. Par l'analyse des plans de croisements et d'une expérimentation incluant le suivi du développement ontogénique des géotypes très différenciés sur leur forme nous avons observé qu'il était possible d'identifier la morphologie d'un arbre adulte (eucalyptus de 7 ans) par une observation judicieuse à l'état jeune (eucalyptus de un à deux

ans). Les corrélations entre l'état juvénile et l'état adulte sont fortes pour les caractères de ramification à condition que la variabilité au sein de la population soit clairement marquée. Il semble que la compétition ait un impact significatif sur l'expression des caractères : le nombre de branches de diamètre inférieur à 2.5 cm et le nombre de fourches diminuent avec l'âge notamment lors de l'entrée des arbres en forte compétition (Bouvet, 1999).

Tableau 13 : comparaison des résultats entre caractères de croissance, caractères morphologiques et liés à la propriété du bois ; σ^2A/σ^2G rapport de la variance additive sur la variance génétique totale et H^2 héritabilité au sens large calculée au niveau individuel (Bouvet 1995).

expérimentation	volume	rectitude (notation)	ramification : nombre de branches par mètre	densité basale (mesurée au pénétrromètre à aiguille)
Plan factoriel <i>E.urophylla*grandis</i> R 90-11 36 mois	$\sigma^2A/\sigma^2G = 0.80$ $H^2 = 0.09$	$\sigma^2A/\sigma^2G = 0.73$ $H^2 = 0.58$	$\sigma^2A/\sigma^2G = 0.71$ $H^2 = 0.48$	$\sigma^2A/\sigma^2G = 0.80$ $H^2 = 0.38$
Plan factoriel <i>E.urophylla*pellita</i> R 90-11 36 mois	$\sigma^2A/\sigma^2G = 0.42$ $H^2 = 0.07$	$\sigma^2A/\sigma^2G = 0.61$ $H^2 = 0.53$	$\sigma^2A/\sigma^2G = 0.71$ $H^2 = 0.40$	$\sigma^2A/\sigma^2G = 0.73$ $H^2 = 0.43$

Caractères liés à la xylogénèse

Le caractère pris en compte est la densité basale. Celle-ci varie au sein de l'arbre (Tableau 14). Chez les eucalyptus elle augmente du centre vers la périphérie et de la base de l'arbre au sommet (Bouvet et Baillères, 1995). Cette tendance est caractéristique des espèces à croissance rapide avec une forte proportion de bois juvénile. Malgré cette variation au sein de l'arbre, ce caractère montre des héritabilités plus fortes que celles des caractères de croissance ; ce résultat est expliqué par une variance environnementale plus faible et une part de variance additive plus élevée (Bouvet, 1995; Bouvet et Baillères, 1995). Ce résultat rejoint ceux obtenus avec d'autres espèces (Sanhueza *et al.*, 2002).

En ce qui concerne la relation avec les autres caractères, on observe une très faible corrélation génétique entre la densité basale et la croissance (Bouvet et Baillères, 1995; Combes *et al.*, 1997), ce qui rejoint les premiers résultats obtenus pour les espèces forestières (Zobel et Talbert, 1984) et d'autres résultats chez les eucalyptus (Sanhueza *et al.*, 2002).

L'impact de l'environnement ou la plasticité des eucalyptus pour ce caractère est cependant observable. Il a été analysé par l'étude de l'impact de la fertilisation, qui favorise la croissance des arbres, sur la densité basale de plusieurs clones d'eucalyptus. Il a été démontré qu'en favorisant la croissance, par une fertilisation, la densité basale de l'arbre augmentait chez les clones de façon variable soulignant la plasticité pour ce caractère et son contrôle génétique (Vigneron *et al.*, 1995).

Tableau 14 : évolution du pourcentage d'écorce et de la densité basale avec l'âge (Bouvet et Baillères, 1995). Test de comparaison des moyennes (Bonferroni). La même lettre désigne le même groupe.

HAUTEUR	0.30m	1.30m	25%	50%	75%	100%
% écorce	14.8a	11.8ab	8.1c	7.6c	9.7bc	10.2bc
densité basale(g/cm ³)	0.505a	0.473b	0.478ab	0.489ab	0.496ab	0.499ab

1.2.4 – Conclusion et perspectives

Expression de la variabilité au cours de la croissance

Le bilan des travaux menés sur l'expression des composantes de la variance constitue un résultat robuste compte tenu de l'échantillon important que nous avons utilisé. Les dispositifs de seconde génération de plans de croisements pourront être couplés à ceux du premier cycle pour estimer de nouveaux effets tels que les effets d'épistasie.

Ceci étant, les recherches ne doivent pas se limiter à l'analyse de caractères sylvicoles. L'avenir des questionnements sur l'expression du phénotype au cours du développement ontogénique passe par le couplage entre composantes élémentaires des caractères complexes et structure et expression du génome. L'apport des nouveaux outils de la biologie moléculaire permettrait de compléter des premiers résultats.

Plasticité phénotypique

Nos études nous ont aussi permis d'aborder la plasticité phénotypique en prenant comme exemple la courbe de croissance de clones ou de familles d'eucalyptus. Nous sommes arrivés à la conclusion que la plasticité phénotypique pouvait être contrôlée génétiquement (interaction génotype*milieu) et pouvait relever de la régulation des gènes, conclusion à laquelle plusieurs travaux étaient parvenus chez d'autres espèces végétales (Schlichting et Pigliucci, 1998). Cette démarche doit être poursuivie avec d'autres types de populations (provenances le long de gradients environnementaux) afin de saisir les patrons d'adaptation au sein des espèces. Il s'agit aussi d'élargir la gamme de caractères afin d'avoir une approche plus fonctionnelle de la plasticité. Les expériences devront aussi s'intéresser à des gradients environnementaux permettant de mieux comprendre le fonctionnement des eucalyptus (gradients de lumières, gradients de régimes hydriques etc.)

Nos résultats soulignent aussi l'intérêt de comprendre plus finement les mécanismes moléculaires de la plasticité, recherches que nous allons développer dans notre projet (voir 2.3.1). La mise en œuvre de plus en plus facilement des techniques d'analyse du génome, du transcriptome et du protéome va enrichir ces premières approches basées sur la prise en compte de caractères globaux.

Intégration chez les espèces forestières

Les résultats que nous avons obtenus sur eucalyptus tendent à confirmer les concepts de base de l'intégration (Pigliucci et Preston, 2004). Nos analyses ne sont cependant que très partielles et mériteraient de nouveaux développements :

- quel est le niveau d'intégration inter et intra modules fonctionnels au sein d'un arbre?

Les caractères que nous avons analysés ne représentent que très partiellement la morphologie d'un arbre et n'ont à l'origine pas été choisis pour aborder l'intégration. Nos premières analyses pourraient être poursuivies en intégrant de nouveaux modules (organes tels que les feuilles, les fleurs ou les fruits) ou avec une meilleure lecture des caractères de morphologie (par une approche touchant le développement architectural). De même les caractères liés à la structure du bois n'ont été abordés qu'au travers de la densité basale. Ce caractère complexe se décompose en plusieurs autres caractères (longueur des fibres, épaisseur des parois, taux de lignines, taux de cellulose) qui permettraient une analyse plus poussée de l'intégration au sein de ce module fonctionnel.

- quelles sont les bases génétiques de l'intégration. Nos modèles de génétique quantitative basés sur la séparation des effets génétiques et environnementaux et la séparation des effets additifs et de dominance pourraient permettre d'avancer sur la part des effets dans l'intégration des caractères intra et inter modules. Comme nous l'avons fait pour les caractères

de croissance il serait possible alors de regrouper l'information nécessaire à l'estimation relativement précise des corrélations additives et de dominances.

- Le concept d'intégration doit être abordé avec les nouveaux outils de la biologie moléculaire. Certains auteurs suggèrent que les gènes ou régions de gènes impliqués dans la régulation pourraient jouer un rôle déterminant dans la plasticité de l'intégration (Pigliucci, 2003).

1.3 – Application à la gestion des ressources génétiques

Si nos recherches ont pour objectif d'améliorer les connaissances des processus d'adaptation et d'expression de la diversité chez les arbres forestiers, elles ont pour finalité de contribuer au développement durable des écosystèmes forestiers. Nous illustrerons ce point par les principales applications de nos résultats.

▪ *Application à la création variétale chez le genre Eucalyptus*

Les recherches chez ce genre ont été réalisées avec une finalité opérationnelle très marquée. Il s'agissait en effet de produire le plus rapidement possible les meilleures « variétés populations » ou « variétés clonales » d'eucalyptus dans le contexte de plantations villageoises ou industrielles.

La sélection précoce

L'analyse des plans de croisements sur l'ensemble des caractères nous a permis de définir un âge de sélection dans les conditions des plantations en milieu tropical humide. Dans les essais au champ, c'est-à-dire dans les conditions de croissance comparables à celles des individus en plantations industrielles, nos recherches ont montré que la sélection précoce pouvait s'avérer efficace après le franchissement du seuil de compétition, c'est-à-dire vers l'âge de 3 ans (Bouvet, 1995b). Celui-ci est marqué par une évolution des variances des caractères de croissance et une évolution des caractères de morphologie tel que la ramification.

Pour les caractères de croissance, hauteur et circonférence, nous avons cherché à mettre au point des méthodes permettant de sélectionner précocement en utilisant les modèles déterministes de courbes de croissances. L'approche consiste à estimer une dynamique de croissance dans le jeune âge et à utiliser cette information pour recréer une courbe de croissance (Bouvet, 1995b).

Nous avons évalué l'intérêt de la sélection précoce (en terme de gain génétique par unité de temps) à un stade très juvénile, c'est-à-dire pour des clones à un stade de jeunes boutures. Nos résultats ont montré que ce type de sélection pour la croissance était totalement inefficace compte tenu de la forte interaction génotype*environnement et de la difficulté à mesurer des caractères adultes pertinents sur des boutures montrant une architecture très ramifiée (Bouvet *et al.*, 2004).

Prédiction de la valeur en croisement

L'apparition des marqueurs moléculaires dans l'amélioration des plantes a fait naître plusieurs initiatives pour tester leur intérêt dans le cadre de la sélection. Dans le cas des espèces forestières, pouvoir juger très précocement de l'aptitude générale à la combinaison d'un individu et de son aptitude spécifique en croisement représente un avantage en terme de gain génétique par unité de temps. Une des premières approches avec les marqueurs moléculaires à laquelle nous avons contribué, a consisté à analyser leur pouvoir prédictif de l'aptitude spécifique à la combinaison lors de croisements entre deux espèces d'eucalyptus. L'utilisation de marqueurs RAPDs a permis de définir plusieurs types de distances qui ont ensuite été

utilisées pour modéliser l'aptitude générale et spécifique à la combinaison. Le modèle permettant d'estimer les effets et de juger de la qualité de la prédiction est le modèle de régression factoriel (Baril *et al.*, 1997a et b). Les premiers résultats se sont montrés encourageants, les marqueurs et le modèle expliquant 82% de la variation. Cette première étude exploratoire a souligné la nécessité de choisir les bons marqueurs entre les deux espèces (fréquence similaire entre les espèces). Cette approche n'a pas été poursuivie car elle nécessitait la mise en œuvre de moyens importants et ne présente pas pour l'instant d'avantage net en terme de gain par unité de temps et de moyens par rapport à la méthode de test au champ.

La sélection multi-caractères

Par nature la sélection est toujours multi-caractères. Chez les espèces forestières trois grands groupes de caractères sont souvent pris en compte : les caractères de croissance, les caractères de morphologie et les caractères liés aux propriétés du bois. Dans le cas des eucalyptus s'ajoute le caractère lié au bouturage étant entendu qu'il existe une très grande variabilité dans l'aptitude au bouturage entre les individus. Les techniques d'index de sélection associant plusieurs caractères peuvent s'avérer efficaces (Bouvet, 1991; Bouvet, 1992 ; Baradat *et al.*, 1995). Nos études ont mis en évidence que ces caractères sont faiblement corrélés entre eux semblant gouvernés par des ensembles de gènes différents (Bouvet, 1995; Bouvet, 1999). La possibilité de sélectionner l'idéotype lorsque les probabilités sont indépendantes est donc faible. Ceci nécessite une stratégie de sélection basée sur un effectif de population de départ important et un taux de sélection modéré pour chaque caractère.

La sélection peut aussi s'opérer sur un caractère synthétique comme le paramètre d'une équation modélisant la croissance d'un arbre. Nous avons développé cette approche pour la sélection clonale d'eucalyptus en utilisant d'abord des modèles non linéaires classiques (Bouvet, 1991) puis en combinant une méthode basée sur l'ajustement par des splines avec une approche de classification hiérarchique pour différencier les stratégies de croissance (Cornillon *et al.*, 2003).

Effet de la densité sur l'amélioration de la sélection

Cet aspect a été fortement étudié dans le cadre de nos recherches par une analyse de l'évolution des paramètres de sélection au sein de familles ou de clones d'eucalyptus (Bouvet *et al.*, 2003). L'augmentation de la compétition par l'augmentation de la densité peut s'avérer une stratégie intéressante pour l'eucalyptus dans certaines conditions. S'il s'agit de familles, l'augmentation de la compétition permet de sélectionner plus précocement compte tenu d'une forte héritabilité dans la phase juvénile, d'une absence d'interaction famille*densité et d'une forte corrélation âge-âge. Par contre, lorsqu'il s'agit de sélectionner des clones, la sélection précoce à forte densité s'avère moins précise compte tenu de la forte interaction clone*milieu. Dans les deux cas précédents, les génotypes "familles" ou "clones" sont testés dans des parcelles de plusieurs individus représentant la même famille ou le même clone. Pour une sélection dont le génotype est représentée par un seul individu (parcelle appelée « monoarbre » par les généticiens forestiers), la sélection à forte densité peut induire de mauvais choix car dans ces conditions l'interaction génotype*densité est très forte (Vigneron *et al.*, in prep).

▪ Conservation et gestion des ressources génétiques

Définition des provenances et unités de conservation

La définition des zones de provenances ou des unités de conservation est un débat qui dépasse les arbres forestiers. Cette question a fait l'objet de nombreuses recherches en biologie de la conservation pour les espèces animales et végétales (Crandall *et al.*, 2000). Définir des zones

de provenances pour la gestion des ressources génétiques forestières s'accorde sur l'intérêt d'une approche intégrée associant plusieurs variables : caractères liés à l'adaptation, marqueurs moléculaires et variables abiotiques (Newton, 1999; Cavers *et al.*, 2003; Kleischmitt *et al.*, 2004). Nous avons mis en application cette approche dans le cas d'*E. urophylla* pour définir des régions de provenances au sein de l'aire naturelle (Tripania *et al.*, soumis). Les performances des provenances pour la croissance et le taux de survie ont été associés à la structure génétique des populations évaluées par des marqueurs microsatellites pour définir la partition des populations en fonction de l'altitude.

Pour la conservation et la gestion du santal nous avons défini des unités significatives d'évolution afin de délimiter des régions de provenances et des zones de conservation et de gestion. Des caractères adaptatifs, des marqueurs moléculaires et des variables abiotiques ont été associés pour définir les unités de gestion (Bottin *et al.*, 2006).

Gestion de la diversité en agroforesterie

Les applications opérationnelles d'analyse des flux de gènes en matière de gestion des ressources génétiques peuvent être perçues dans le cadre de la gestion des parcs agroforestiers. Quel est l'impact de la réduction de la densité de karité sur la diversité génétique ? Quel est l'impact de réservoir de diversité dans l'aménagement des parcs dans la dynamique sur le long terme de la diversité génétique. Les résultats obtenus par les analyses de la dynamique de la diversité à échelle locale (Kelly *et al.*, 2004; Kelly *et al.*, 2005; Kelly *et al.*, soumis) permettent d'alimenter des modèles d'évolution de la diversité selon différents scénarios et de proposer diverses solutions d'aménagement.

1.4 – Conclusion

L'exploration de la diversité met en évidence la grande variabilité au sein des espèces forestières, notamment au sein des populations. Pour comprendre les déterminants de cette variation (gradient environnemental, impact des pratiques humaines, géographie de l'aire de distribution) nous avons associé le quantitatif et le moléculaire neutre. Nous avons ainsi pu évaluer les effets des différentes forces évolutives (sélection, hasard et flux de gènes) dans plusieurs contextes de distribution des espèces et analyser l'impact de la sélection naturelle. L'isolement par la distance et la fragmentation des aires, les événements historiques comme les dernières glaciations, les modalités de dispersion des graines apparaissent comme des facteurs pertinents pour comprendre la distribution de la diversité génétique et notamment la variabilité adaptative.

La prochaine étape doit s'appuyer sur la connaissance de la structure et du fonctionnement du génome pour aborder la variation au sein des espèces. Les progrès de la génomique structurale et fonctionnelle doivent permettre une meilleure prise en compte la relation gène-phénotype dans l'analyse de la variation adaptative.

De plus, certaines de nos études ont souligné le besoin d'associer d'autres disciplines à l'approche génétique pour mieux répondre aux questions d'adaptation. Les disciplines de l'écologie prise au sens large (écophysiologie, dynamique des populations) semblent très complémentaires de la génétique pour mieux aborder la question de l'adaptation.

Dans une approche axée sur la diversité intra population, en prenant comme modèle le genre *Eucalyptus*, nos travaux ont décortiqué l'expression de la variabilité d'origine génétique et environnementale au cours de la croissance pour plusieurs types de caractères (taille de l'arbre, morphologie et propriétés mécaniques du bois). Nous avons abordé les concepts de plasticité phénotypique et d'intégration des caractères en liason avec les changements environnementaux induits par l'augmentation de la compétition. Cette approche très partielle

souligne l'intérêt d'intégrer ces concepts pour comprendre l'impact de la sélection naturelle sur le fonctionnement de la plante.

2 – PROJET SCIENTIFIQUE : VARIATION ADAPTATIVE SELON LES GRADIENTS ENVIRONNEMENTAUX

La synthèse de nos travaux a illustré l'impact de certains facteurs évolutifs sur les patrons de diversité et l'expression de la variabilité au cours de la croissance en fonction de contraintes environnementales. Les différentes problématiques ont abordé la question de l'adaptation des espèces forestières aux conditions environnementales.

L'adaptation locale occupe une place importante sur le plan conceptuel en écologie. Elle constitue un paradigme permettant de tester les hypothèses sur les facteurs qui favorisent ou retardent le processus d'adaptation (Kawecki et Ebert, 2004). Ceci étant, malgré plusieurs travaux empiriques et théoriques de génétique quantitative, peu de résultats sont disponibles sur les bases génétiques de l'adaptation. Quels gènes varient entre les écotypes ? La variation affecte-t-elle peu de gènes à effets majeurs ou de nombreux gènes à effets mineurs ? etc.

Compte tenu de l'évolution de nos recherches, des perspectives qu'offre le concept d'adaptation et des nouveaux outils de la génomique (Howe et Brunner, 2005), notre projet s'oriente vers l'étude des mécanismes génétiques d'adaptation selon des gradients environnementaux. Plusieurs questions de recherches relatives à la plasticité phénotypique et moléculaire, à la nature des gènes façonnés par la sélection naturelle, et à la relation gène-produit d'expression-phénotype touchant les espèces en milieu tropical, nous semblent pouvoir être abordées dans ce cadre.

Les recherches dans ce domaine apparaissent par ailleurs fortement connectées aux grands enjeux environnementaux (changements climatiques, évolution physico-chimique des terres agricoles) et sociétaux (gestion de la biodiversité, création variétale, etc). Des résultats sont attendus pour mieux gérer les ressources génétiques face à ces évolutions.

Nous décrirons les nouveaux enjeux scientifiques et les enjeux de développement liés à l'adaptation des arbres en milieu tropical, puis nous présenterons les objectifs ainsi que la stratégie de notre projet.

Par la suite nous évoquerons des questions d'ordre méthodologique relatives à l'approche phénotypique et moléculaire de l'adaptation qui viennent en complément de la première partie du mémoire et souligne l'approche innovante.

Enfin nous illustrerons notre concept par deux projets en cours de développement. Ils prolongent les activités présentées en première partie. Le premier porte sur *Vittellaria paradoxa* et le second porte sur *Eucalyptus urophylla*.

Notre projet s'inscrit dans le cadre des activités de l'unité propre de recherche du département Forêt du CIRAD UPR39 : « Diversité Génétique et Amélioration des Espèces Forestières ».

2.1 - Adaptation des arbres en milieu tropical : nouveaux enjeux

Le concept d'adaptation locale suscite de nombreuses recherches depuis une quarantaine d'années (Williams, 1966) et propose de nouveaux enjeux sur le plan scientifique, avec l'association d'approches liées à la génomique à celles liées à l'écologie évolutive et fonctionnelle (Kawecki et Ebert, 2004). Sur le plan de la gestion des ressources naturelles,

compte tenu de l'effet des changements globaux sur l'évolution des écosystèmes en milieu tropical, une meilleure connaissance de la variation adaptative ne pourra que renforcer les stratégies de gestion et valorisation des écosystèmes forestiers et agro-forestiers.

2.1.1 - Enjeux et questions scientifiques

Comme l'illustre la première partie de ce mémoire, la compréhension des patrons de diversité génétique au sein des espèces tropicales s'est principalement réalisée selon deux démarches distinctes : l'analyse de la variation phénotypique de caractères quantitatifs (sylvicoles pour la plupart) et celle utilisant des marqueurs moléculaires, neutres pour la plupart. Les essais de provenances/descendances ont permis de mieux cerner le déterminisme génétique et l'interaction génotype*environnement des caractères de biomasse, de morphologie des organes et de structure du bois soulignant la grande variation d'origine génétique au sein des espèces. La plasticité phénotypique et les normes de réaction ont aussi été abordées en croisant variation génétique et environnement (facteurs biotiques tels que le stress hydrique, la résistance au froid, la compétition) mais sont restées très descriptives et ont très peu approfondi les questions sur le plan évolutif et fonctionnel. Par ailleurs, les études par marquage moléculaire ont permis d'évaluer les effets de dérive et de migration contribuant ainsi à comprendre les effets conjugués des forces évolutives. La comparaison des indices de différenciation, F_{st} et Q_{st} , a montré que la sélection naturelle intervenait de façon prépondérante dans l'expression de la diversité (McKay et Latta, 2002).

Enfin, des progrès sensibles ont été réalisés dans l'architecture génétique des caractères, par la mise en évidence de QTLs (Lynch et Walsh, 1998). L'estimation du nombre, de la position sur le génome et de leur expression dans l'espace et dans le temps a permis de mieux cerner des effets de gènes majeurs contrôlant une partie de la variation adaptative.

Ceci étant, les questionnements en génétique forestière évoluent par une plus forte connexion avec les disciplines comme l'écologie évolutive et fonctionnelle et la biologie moléculaire. Ils peuvent conduire à de nouveaux enjeux scientifiques. Sans prétendre être exhaustif, nous évoquons ci-après les questions qui découlent de nos précédentes études.

Structure de la diversité et adaptation

Nous savons que la distribution selon un gradient environnemental peut conduire à une adaptation locale et une différenciation génétique des écotypes. Ceci étant, les patrons de distribution de la diversité selon ce gradient ne sont que grossièrement connus. Existe-t-il par exemple une différence en terme de structure génétique des populations entre les écotypes situés au centre du gradient par rapport aux écotypes situés aux extrémités ? Cette différence, si elle existe, est-elle liée à une différence de plasticité des populations ? Des travaux entrepris sur d'autres plantes semblent montrer que les populations ayant la plus grande plasticité se situent au centre. Les effets de dérive et de dépression consanguine pourraient expliquer la faible plasticité des populations marginales (Santamaria *et al.*, 2003).

Plasticité phénotypique

La problématique de la plasticité phénotypique en relation avec l'adaptation selon les gradients environnementaux n'a été que très peu abordée. De nombreux travaux ont démontré un déterminisme génétique marqué de la plasticité et mis en évidence qu'il existe une variation génétique abondante pour les normes de réaction, mais peu d'études ont quantifié et élucidé les effets de la sélection naturelle sur la plasticité (Pigliucci, 2005). Nous savons que

la plasticité peut répondre à la sélection naturelle mais quelles sont les conditions écologiques qui favorisent la sélection stabilisante ou directionnelle des normes de réaction ?

Si le concept de la plasticité phénotypique a d'abord concerné les caractères morphologiques ou physiologiques des plantes, il se dirige aujourd'hui vers un concept plus large abordant la question par niveau hiérarchique du gène au phénotype (Schlichting et Smith, 2002). Selon ces auteurs pour comprendre comment évolue la plasticité phénotypique au sein des populations il faut aussi comprendre les mécanismes moléculaires et cellulaires avec lesquels l'organisme montre de la flexibilité par rapport à un environnement changeant.

Mesure de la valeur sélective "fitness"

Comme le soulignent Kawecki et Ebert (2004) comprendre les effets de l'environnement sur l'adaptation nécessite de mesurer la variation de la fitness des populations. La façon la plus commune consiste à mesurer des caractères représentatifs de la performance des individus dans les différents environnements.

Notre analyse de la variation phénotypique est souvent limitée aux caractères sylvicoles ou plus généralement aux caractères d'intérêt agronomique. Pour la production en volume il s'agit souvent de mesurer trois variables que sont la croissance en hauteur, la croissance en circonférence et le taux de survie. Pour la production en biomasse la densité basale du bois est prise en compte très grossièrement.

Cette approche est insuffisante pour comprendre la relation entre les facteurs environnementaux et le phénotype adapté aux conditions locales. Nous devons adopter une démarche en relation avec l'autoécologie et le fonctionnement de l'espèce ; il s'agit d'élargir notre ensemble de caractères et d'utiliser les variables les plus pertinentes en fonction du gradient environnemental. La définition des caractères basée sur le fonctionnement de la plante est proposée par Cornelissen *et al.* (2003). Par exemple, les différentes fonctions de la vie d'un arbre (la germination, la croissance, la reproduction) peuvent être étudiées chacune par un ensemble de caractères élémentaires (organe, tissu). Pour chaque phase le type de caractère peut être de type morphologique (taille des fruits, des graines, des feuilles, etc.) ou physiologique (croissance, phénologie, δC_{13} , constituants minéraux, etc.).

Ces approches permettraient de mieux cerner quelle stratégie l'espèce met en œuvre pour s'adapter aux gradients environnementaux, notamment par la notion de plasticité et d'intégration phénotypique (Murren, 2002) et faciliteraient les études d'association entre variation moléculaire et variation phénotypique.

L'intégration phénotypique que nous avons évoquée dans le paragraphe 12, mérite aussi de nouvelles investigations dans le cadre de l'adaptation des arbres. Si, sur le plan évolutif, on s'accorde pour dire que les relations entre caractères, qu'elles soient de nature génétique, fonctionnelle, ontogénique limitent l'évolution des organismes, il semble que les patrons de l'intégration phénotypique puissent être modifiés par la sélection naturelle afin d'améliorer l'adaptation à un nouvel environnement (Pigliucci, 2003). Ceci étant, peu de données sont disponibles pour comprendre comment les gradients environnementaux façonnent les relations entre caractères à l'intérieur du même module fonctionnel ou entre modules chez les arbres forestiers.

Bases moléculaires de l'adaptation

Les premiers travaux de génétique des populations basés sur le polymorphisme de séquence de gènes liés à l'adaptation ont commencé il y a une vingtaine d'années (Kreitmann, 1983 selon Wright et Gaut, 2004) avec de sérieux espoirs d'améliorer notre compréhension des bases moléculaires de l'adaptation. Les travaux de plus en plus nombreux ont permis de faire

un bilan sur les aspects théoriques et statistiques notamment les facteurs affectant la détection des effets de sélection et les effets des processus démographique (nous reprenons ces points dans les encadrés 4 et 5). Un bilan concernant les différentes espèces modèles telles que la drosophile, le maïs et Arabidopsis montrent que 20% des gènes étudiés portent la signature de la sélection naturelle. Ces premiers travaux ouvrent de nouvelles perspectives. Selon Wright et Gaut (2004), des méthodes statistiques plus puissantes devront être élaborées pour détecter la signature de la sélection et éviter les biais des effets démographiques. De plus, ces auteurs notent que la majorité des travaux de diversité nucléotidique concernent des échantillons représentatifs de l'espèce et non basés sur la variation entre populations distribuées sur un gradient d'adaptation. Ce dispositif permettrait une meilleure détection des effets de la sélection.

Concernant, la nature des gènes (gènes de structure ou de régulation), leur interaction, la variation de leur forme allélique et l'impact des forces évolutives (notamment la sélection naturelle) sur leurs schémas d'expression, les connaissances restent très embryonnaires. Plusieurs questions fondamentales restent en suspens, par exemple selon Orr (1998): (i) combien de gènes sont impliqués dans l'évolution des caractères de valeur adaptative ? (ii) quelle est la relation entre variation allélique et variation phénotypique ? (iii) l'adaptation se réalise-t-elle sur la variation existante ou sur de nouvelles mutations ? (iv) quelle est l'importance relative des effets additifs et non additifs dans la variation des caractères adaptatifs ?

Dans le même registre, Nevo (2001) soulève la question du rôle de l'ADN codant et non codant dans l'adaptation compte tenu des nouveaux débats autour de la fonction du génome non codant. Plusieurs questions doivent être abordées : de quelle façon les régions codantes et non codantes sont-elles affectées par la sélection naturelle ? Quel rôle jouent les parties codantes et non codantes du génome dans l'adaptation ?

2.1.2 - Enjeux liés à la gestion des ressources génétiques

En zone tropicale, plus particulièrement dans certaines régions dont le développement est essentiellement basé sur la production agricole et donc économiquement fragiles, les enjeux de développement liés à l'adaptation des espèces forestières sont importants. Changements climatiques, érosion, explosion démographique pourraient dégrader les écosystèmes forestiers et agro-forestiers dans des délais relativement courts par rapport à la vie des espèces.

Par exemple, les changements climatiques dans les 100 prochaines années auront probablement un fort impact sur les écosystèmes forestiers (Spittlehouse et Stewart, 2003). À la fin du 21^{ème} siècle certains modèles prévoient que la température moyenne de la zone tempérée sera de 2 à 5°C supérieure à celle du dernier millénaire, les précipitations hivernales seront plus importantes et les précipitations estivales plus faibles. En zone soudano-sahélienne, les climatologues prévoient une augmentation de la température. Le processus de réchauffement y est déjà très marqué; la pluviométrie a décliné de 20 à 40% au cours des deux dernières décennies (Desanker et Magadza, 2001) devenant une menace actuelle pour de nombreuses espèces agroforestières de cette région climatique d'Afrique.

La vulnérabilité des écosystèmes forestiers face aux changements climatiques pourrait augmenter à travers une plus grande susceptibilité aux parasites, aux feux, aux exotiques. La régénération naturelle pourrait devenir de plus en plus aléatoire et le potentiel économique pourrait diminuer par une réduction de la croissance et de la qualité des produits. Il est prévu des mouvements d'aires de distribution, des disparitions et de nouvelles associations au sein des écosystèmes.

Pour accompagner ces changements plusieurs mesures de gestion des ressources génétiques devront être réalisées (i) déterminer les réponses des espèces aux changements climatiques par de nouveaux tests de provenances et autres recherches et définir leur limite de transférabilité (ii) développer des programmes d'amélioration pour des génotypes plus plastiques (iii) redéfinir les méthodes de sylviculture, etc.

Soulignons qu'en zone tropicale, à ces évolutions climatiques, s'ajoute dans des zones à fortes pressions démographiques, Indonésie ou Madagascar par exemple, l'impact des pratiques agricoles basées sur la culture sur brûlis transformant l'écosystème forestier en zone stérile impropre à toute agriculture et à la régénération des peuplements d'origine.

Comme le soulignent Jump et Penulas (2005), Il y a un besoin urgent de caractérisation des ressources génétiques résiduelles sur le plan adaptatif pour construire des stratégies de conservation et pour utiliser au mieux la variabilité dans le développement durable.

L'exploitation des plantes (leur potentiel d'adaptation de même que leur diversité), pour produire de façon stable et durable, demeure un enjeu permanent pour de nombreuses populations dans la zone tropicale. Plusieurs instances internationales ont souligné le besoin de préserver la biodiversité et de fournir des variétés adaptées aux agriculteurs des zones rurales les plus pauvres. L'amélioration et la valorisation de variétés adaptées et stables sont d'une importance cruciale dans les environnements les plus défavorables à l'agriculture. La stratégie consiste aujourd'hui à créer des variétés adaptées aux conditions locales et non plus à modifier l'environnement pour accueillir des cultivars adaptés à des environnements standards. La connaissance de la diversité adaptative apparaît aussi cruciale dans ce cadre.

2.2 - Objectifs et stratégie de recherche

Compte tenu des enjeux scientifiques que nous avons évoqués précédemment, notre projet revêt un périmètre très large qui ne pourra être abordé que par une approche multi disciplinaire développée par plusieurs sous-projets.

▪ Objectifs

L'Objectif scientifique général est de comprendre l'impact des forces évolutives sur les mécanismes d'adaptation le long de gradients environnementaux par l'analyse de la variation au sein et entre les populations d'arbres.

Cet objectif général se décline en objectifs spécifiques :

(i) - détecter l'impact de la sélection naturelle et des autres forces évolutives sur la structure du génome par l'analyse des patrons de variation nucléotidique des gènes de structure et de régulation le long des gradients environnementaux.

(ii) – identifier les facteurs biotiques et abiotiques responsable de la variation phénotypique et moléculaire par l'analyse de l'interaction génotype*environnement.

(iii) - évaluer l'impact des facteurs évolutifs sur la plasticité le long des gradients environnementaux par l'analyse des normes de réactions à différents niveaux; des produits d'expression des gènes et aux caractères quantitatifs.

(iv) - évaluer l'impact des facteurs évolutifs sur l'intégration des caractères abordée au niveau moléculaire et phénotypique.

▪ *Intégration des disciplines*

Pour aborder les nouveaux enjeux en génétique de l'adaptation, il apparaît pertinent d'associer les nouvelles connaissances du génome et de son expression aux méthodes et modèles théoriques de génétique quantitative et des populations.

Mais la mise en œuvre de nouvelles méthodologies, ne doit pas réduire les questions d'adaptation uniquement à la génétique, présentant le risque de limiter la compréhension des processus.

Plusieurs études, (Kawecki et Ebert, 2004; Howe et Brunner, 2005) ont souligné que le concept d'adaptation locale ne pouvait être abordé que par une approche intégrée où les disciplines de l'écologie occupaient une place centrale. Nous avons insisté sur cet aspect en conclusion de la première partie et pour cette raison, nous envisageons de poursuivre nos recherches selon une approche plus ouvertes sur les concepts d'écologie.

Par ailleurs, la détection des effets de la sélection et l'analyse de processus complexe faisant intervenir plusieurs facteurs nécessite la mise en œuvre de modèles (génétique, écologique) pertinents. Les biomathématiques semblent essentielles pour permettre de quantifier et tester les différents effets et pour modéliser la dynamique de la diversité génétique.

2.3 - Questions méthodologiques

Les enjeux et objectifs scientifiques que nous avons définis conduisent à souligner plusieurs points d'ordre méthodologique. Il n'est pas question de donner ici tous les aspects méthodologiques de l'approche intégrée que nous souhaitons développer, mais de donner quelques éclairages sur les méthodes de lecture de la variation.

2.3.1 - Approche expérimentale

Les études relatives à l'adaptation locale s'appuient sur une hypothétique relation entre un facteur environnemental (biotique ou abiotique) et un ou des caractères. Il est nécessaire de vérifier si les caractères sont bien corrélés à la fitness et si les facteurs environnementaux sont aussi corrélés à la fitness. Ces corrélations doivent être étudiées dans le cadre d'expérimentations multisites.

L'évaluation de la part des effets environnementaux, des effets génétiques et de leur interaction dans l'expression du phénotype est nécessaire pour comprendre la façon dont la sélection naturelle organise la variation.

Cette approche nécessite la mise en place des populations dans des essais où le pedigree et la variation environnementale sont contrôlés et de répéter l'essai dans des environnements contrastés représentatifs du gradient environnemental.

Elle permet aussi d'estimer l'hérédité des caractères, c'est-à-dire la part entre les effets environnementaux et les effets génétiques et de mesurer la plasticité phénotypique (voir définition paragraphe 1.1).

Notre projet s'appuiera aussi sur les populations dans leur milieu naturel afin d'analyser les processus démographiques et écologiques à l'origine de la distribution des individus.

2.3.2 – Gènes candidats et détection des effets de la sélection

Nous insisterons plus particulièrement sur ce point qui constitue un aspect innovant par rapport aux méthodes présentées dans le paragraphe 1.

▪ Mise en évidence des gènes candidats : Apports de la génomique

Bien que ces derniers restent limités, des efforts importants ont été accomplis en génomique fonctionnelle et structurale chez les espèces forestières (Plomion *et al.*, 2005) pour certains genres comme les pins, les eucalyptus et les peupliers. Chez les peupliers, qui constituent le genre le plus avancé, des études ont été lancées afin de mieux connaître des gènes et familles de gènes concernant les caractères de dormance, de maturation et de xylogénèse (Brunner et Nilsson, 2004; Pilate *et al.*, 2004). Le séquençage complet du génome de *Populus* est aujourd'hui réalisé et devrait favoriser les recherches en génomique de ce genre et d'autres genres tel que celui des *Eucalyptus* (lui-même en cours de séquençage).

L'aspect fonctionnel est en cours de développement. Ainsi, des études ont été entreprises pour analyser les profils d'expression en utilisant les étiquettes de séquences exprimées issues de plusieurs tissus et plusieurs traitements notamment chez les peupliers, pins et eucalyptus (Boerjan, 2005). Plusieurs équipes se sont spécialisées dans les facteurs de transcription qui jouent un rôle dans la régulation des gènes notamment dans la formation du xylème primaire et secondaire chez les pins, les peupliers et chez *Arabidopsis*.

Bien qu'elles soient encore limitées, les recherches en protéomique ont démarré dans plusieurs équipes pour comparer l'expression du protéome selon différentes conditions; chez les peupliers (Di Fazio, 2005), chez le Pin (Plomion *et al.*, 2004; Gion *et al.*, 2005) et eucalyptus (Plomion *et al.*, 2003; Labate, 2005). Elles devraient favoriser la mise en évidence de gènes candidats.

Ces avancées permettent de développer plusieurs stratégies d'étude de la variabilité au sein des gènes, passant par la détection du gène candidat, l'étude du polymorphisme et l'association de ce polymorphisme avec celui d'un trait phénotypique.

• Variation nucléotidique au sein des gènes candidats

Plusieurs approches, développées d'abord chez les plantes modèles (Morin *et al.* 2004), ont été appliquées chez les arbres forestiers:

- l'analyse de la diversité nucléotidique au sein des gènes candidats de fonction connue qui peuvent avoir un effet sur l'adaptation aux conditions environnementales ou sur des caractères influençant la valeur sélective des individus ; cette approche a déjà été développée chez quelques espèces forestières pour les caractères d'adaptation aux conditions climatiques (voir tableau 13 et encadré 2),
- l'analyse de la diversité par un scan complet du génome qui permet d'identifier les régions soumises à la sélection ; la question de faisabilité reste le nombre de SNPs à mettre en évidence pour avoir une approche efficace (Luikart *et al.*, 2003) ; cette approche est en cours de développement chez les pins. Par exemple, une étude d'association est réalisée pour *Pinus taeda*. Celle-ci est basée sur 5000 gènes et 1000 SNPs dont on étudiera la variation allélique en relation avec la variation quantitative de caractères de propriété anatomique et chimique du bois, de résistance au parasite (Neale *et al.*, 2005) (Tableau 13),

Tableau 13 : résumé des principaux résultats d'analyses de la diversité nucléotidique au sein des gènes candidats et des études d'association chez les espèces forestières

Espèces	Taille de l'échantillon (individus)	Nombre de populations	Nombre et type de gènes	Zone de distribution de l'échantillon	Conclusions	Etude
<i>Pseudotsuga miensezii</i>	24	6 régions	15 gènes impliqués dans la résistance au froid et 3 gènes impliqués dans la qualité du bois	Variation entre nord et sud d'une partie de l'aire naturelle	substitutions nucléotidiques non synonymes moins fréquentes que substitutions synonymes. DL décroît au sein des gènes	Krutovsky et Neale, 2005
<i>Eucalyptus nitens</i>	290		gène CCR	région centrale du Victoria	étude d'association entre haplotype (SNPs) de CCR et caractère de propriété du bois	Thumma <i>et al.</i> , 2005
<i>Pinus pinaster</i>	23	13	8 gènes impliqués dans la formation du bois	Variation entre le nord et sud de l'aire	Certains gènes paraissent subir les effets de la sélection naturelle	Pot <i>et al.</i> , 2005
<i>Pinus sylvestris</i>	12-15	3	2 phytochromes PHYO et PHYP	Débouillage entre nord et sud de l'Europe	Faible variation nucléotidique synonyme et non synonyme : possible effet de la sélection	Carcia-Gil <i>et al.</i> , 2003
<i>Pinus sylvestris</i>	20	4	Fragment du gène pal1	De la Finlande à L'Espagne	Faible variation nucléotidique	Dvornyk <i>et al.</i> , 2002
<i>Populus tremula</i>	17-24	4	5 gènes de fonction diverse	Nord et centre de l'Europe	Processus démographique semble, plus que la sélection, la cause de l'excès de polymorphisme de faible fréquence	Ingvarsson, 2005
<i>Betula pendula</i>	20	2	1 gène BpMADS2 formation des organes floraux	Finlande		Järvinen <i>et al.</i> , 2003
<i>Pinus taeda</i>	32	Arbres plus	19 gènes fonctions diverses	Majorité de l'aire naturelle	Pas d'évidence d'effet de la sélection sur les 19 gènes	Brown <i>et al.</i> , 2004
<i>Cryptomeria japonica</i>	48	3	5 gènes de fonctions diverses	3 zones au Japon	Possibilité de sélection naturelle pour certains gènes	Kado <i>et al.</i> , 2003
<i>Eucalyptus globulus</i>	23	4	2 gènes impliqués dans la formation du bois (CCR et CAD2)	Sud Australie	mise en évidence variation nucléotidique synonyme et non synonyme	Poke <i>et al.</i> , 2003
<i>Pinus taeda</i>	31	individus distribués dans 3 régions	18 gènes candidats impliqués dans la tolérance à la sécheresse	Sud-est des Etats-Unis	diversité nucléotidique modérée, faible déséquilibre de liaison au sein des gènes. Deux gènes montrant d'éventuels effets de la sélection	Gonzalez-Martinez <i>et al.</i> , 2005

- une troisième approche, intermédiaire des deux précédentes, consiste à étudier la variation nucléotidique sur un ensemble de gènes polymorphes susceptibles d'influencer l'adaptation. Cette approche peut apporter une nouvelle compréhension de la distribution de la variation adaptative et alimenter la réflexion sur la conservation et la dynamique de la biodiversité (Van Tienderen, 2002) notamment pour les espèces dont on ne dispose pas d'essais provenances et pour lesquelles, les mesures réalisées in situ, ne permettent pas de séparer les effets du milieu des effets génétiques.

Encadré 2 : Diversité nucléotidique et mise en évidence de l'adaptation locale chez les espèces forestières

Chez les espèces forestières les études sont encore peu nombreuses et concernent surtout l'approche gène candidat et leur variation nucléotidique (voir tableau 13). Elles touchent des gènes impliqués dans la formation et les propriétés du bois et des gènes de fonctions diverses.

Certaines études supposent un effet de la sélection sur la diversité nucléotidique d'autres soulignent le possible effet démographique (recolonisation après les dernières glaciations) pour expliquer les valeurs de certains paramètres qui pourraient être attribués à des effets de la sélection, par exemple :

- Sans utiliser de tests de neutralité, Garcia-Gill *et al.* (2003) étudient la variation nucléotidique au sein de deux loci codant pour les phytochromes selon un cline latitudinal chez le pin sylvestre (*Pinus sylvestris*). Le faible polymorphisme au sein des séquences laisse supposer une sélection stabilisante (purifiante) chez ces gènes.
- Pour le pin maritime, Pot *et al.* (2005) suggèrent que le gène KORRIGAN, impliqué dans la biosynthèse de la cellulose qui code pour le bêta 1-4 endoglucanase est soumis à une sélection "diversifiante" résultat d'une adaptation locale.
- Le résultat apparaît moins clairement chez le Douglas (Krutovsky et Neale, 2005). Malgré des valeurs négatives de D (voir paragraphe ci-après pour les aspects méthodologiques) suggérant une sélection négative (par définition éliminant les allèles rares délétères), les auteurs soulignent qu'il est impossible de savoir s'il s'agit d'une véritable sélection ou la conséquence de l'expansion de la population.
- Par contre sur un échantillon de 32 individus de *Pinus elliotii*, Brown *et al.* (2004) ne mettent pas en évidence d'effet significatif de la sélection sur 19 gènes correspondant à différentes fonctions. Malgré de fortes valeurs positives et négatives de D en fonction des loci, les tests statistiques après correction pour éviter les faux positifs ne soulignent pas d'effet de la sélection. Les auteurs évoquent la faiblesse de l'échantillonnage.
- De même, Kado *et al.* (2003) ne mettent pas en évidence de D significativement différent de zéro pour 7 loci chez *Cryptomeria japonica* mais propose un effet de la sélection sur une des loci compte tenu de son très faible polymorphisme et d'une valeur négative de D.

Encadré 3 : Mise en évidence de la sélection naturelle : questions méthodologiques

Qu'il s'agisse d'une approche par gènes candidats ou d'un scan global du génome, l'identification des effets de la sélection naturelle pose plusieurs problèmes méthodologiques.

Sclötterer (2002) et Storz (2005) ont revu différentes méthodes statistiques pour identifier des loci marqués par des adaptations locales dans le cas d'une analyse par un scan du génome. Ils distinguent deux classes de méthodes : celles basées sur la différenciation entre les populations (F_{st}) et celles basées sur le niveau de diversité au sein de populations (H_0).

Des valeurs du F_{st} peu différentes de celles d'un modèle de génétique populationnel de neutralité signifient une sélection équilibrante (balancing selection), maintenant le polymorphisme, alors que des valeurs de F_{st} très significativement différentes mettront en évidence des loci soumis à une sélection directionnelle, résultant d'adaptations locales. Cependant la mise en évidence d'écart à la neutralité par les F_{st} est rendue difficile par le fait de confondre les effets démographiques et les effets de la sélection et par le fait d'utiliser des tests multiples. Beaumont et Balding (2003) ont cherché à améliorer les tests par une méthode basée sur une approche bayésienne mise en œuvre par MCMC (Markov Chain Monte Carlo). Cette approche détecte l'effet de la sélection naturelle (sélection directionnelle ; adaptation locale) lorsque le coefficient de sélection est 5 fois plus grand que le taux de migration, par contre elle ne permet pas de détecter la sélection équilibrée même avec un taux de sélection 20 fois plus grand que le taux de migration.

Avec une approche par gènes candidats, l'étude de la sélection naturelle comme cause possible de la variation nucléotidique au sein des populations peut aussi être abordée par l'application des tests de neutralité qui testent la distribution des fréquences alléliques par rapport au modèle neutre. La statistique D de Tajima (Tajima, 1989) est la plus utilisée : elle est de valeur nulle dans le cas de la neutralité. Après une sélection positive, il y a un excès de variants rares et D prend une valeur négative. Une valeur positive résultant de l'accumulation de variants de fréquence intermédiaire indique une sélection équilibrée. D'autres tests sont possible, notamment ceux basés sur le degré de diversité des loci tel que le test HKA ou le test basé sur le niveau de déséquilibre de liaison (Kim et Nielsen, 2004). Ceci étant comme le soulignent Wright et Gaut (2004), les effets de la sélection naturelle chez les plantes sont probablement surestimés pour deux principales raisons : les effets démographiques n'ont pas été convenablement pris en compte dans l'échantillonnage et les gènes étudiés ne sont pas représentatifs de tous les gènes. Ces auteurs soulignent que la détection des effets d'une sélection positive dépend de plusieurs facteurs : l'importance de la sélection, le temps écoulé depuis la fixation de la mutation favorable et le degré de recombinaison entre la mutation et les locus neutres. En ce qui concerne la sélection équilibrée, le pouvoir de détection dépend du taux de recombinaison au sein de l'espèce. Un taux de recombinaison élevé avec des locus neutres conduira à masquer le site ayant fait l'objet des effets de sélection. Enfin, Wright et Gaut (2004) ajoutent que la plupart des plantes ne remplissent pas totalement les hypothèses du modèle neutre (taille infinie au cours des générations, croisement au hasard, absence de présence et/ou mélange de plusieurs sous populations dans l'échantillon) et le rejet d'un effet neutre pour des données de séquences peut donc être biaisé.

Une fois qu'un ensemble de gènes candidats (structuraux ou de régulation) est identifié, les mutations ayant un impact sur l'adaptation peuvent être détectées par l'analyse des patrons de diversité des nucléotides au sein des gènes. Un schéma d'analyse est aujourd'hui entrepris par plusieurs équipes (Plomion *et al.*, 2005) :

- détection au sein du gène des mutations (SNPs et événements d'insertion délétion, INDEL) dans les régions codantes et non codantes,
- analyse de l'amplitude et la structure de la diversité au niveau nucléotidique et haplotypique, afin de comprendre comment l'éventuel impact de la sélection naturelle s'est appliqué au sein de la population,
- estimation du niveau de déséquilibre de liaison pour prédire l'efficacité des études d'association,
- étude des effets de la sélection naturelle sur le polymorphisme par l'application de différentes approches statistiques,
- étude de l'association entre forme allélique et caractère phénotypique.

Ces deux dernières approches posent plusieurs problèmes sur le plan méthodologique qui sont rapidement évoqués dans les encadrés 3 et 4:

- Mise en évidence de la sélection naturelle au sein des gènes candidats (encadré 3),
- Test d'association entre forme allélique et variation phénotypique (encadré 4).

Encadré 4 : Test d'association entre forme allélique et variation phénotypique

Les études d'association dépendent du niveau de déséquilibre de liaison. Ce paramètre détermine la taille de la région du génome qui pourra être caractérisée par un marqueur. Un déséquilibre de liaison élevé est nécessaire pour scanner le génome complet afin de déterminer l'architecture génétique d'un caractère quantitatif. C'est en s'appuyant sur ce fort déséquilibre que sont effectuées les mises en évidence de QTLs dans des familles où réside un LD élevé. L'inconvénient de cette approche réside en sa faible précision, un marqueur de la région du génome pouvant couvrir plusieurs gènes : il devient alors impossible de mettre en relation de façon univoque le polymorphisme et la variation phénotypique. Les populations d'arbres forestiers considérées comme sauvage et à régime allogame présentent en général un faible déséquilibre de liaison due aux nombreuses générations et recombinaisons au sein du génome. Il est alors possible de marquer des segments chromosomiques de petite taille permettant a priori de repérer le polymorphisme associé avec la variation phénotypique (Neale et Savolainen, 2004).

Le déséquilibre de liaison et les tests d'association peuvent être obtenus par un scan complet du génome mais le nombre de marqueurs nécessaires, sachant par exemple que le LD décroît à 1.5 Kb chez *Pinus taeda* (Brown *et al.*, 2004), et les coûts engendrés ne sont pas compatibles avec le niveau de financement des recherches pour les espèces forestières.

Une solution est de rechercher l'association au sein des gènes candidats qui sont supposés s'exprimer dans la réalisation du caractère complexe. La mise en évidence d'"haplobloc" à fort déséquilibre de liaison au sein des gènes pour les études d'association (association mapping) a été initiée pour deux espèces *Pinus taeda* (Gonzalez-Martinez *et al.*, 2005) et *Pseudotsuga miensezii* (Krutovski et Neale, 2005). On peut citer l'étude complète sur *Eucalyptus nitens* où des tests d'association entre le gène CCR et l'angle des microfibrilles de cellulose (angle par rapport à l'axe longitudinal) qui détermine la rigidité ont été conduits sur une population de 290 individus issus de populations naturelles (Thumma *et al.*, 2005).

Les tests d'association entre forme haplotypique et variation phénotypique posent le problème de la reconstitution de la phase gamétique. La détermination des haplotypes par séquençage après clonage est une activité laborieuse et coûteuse. De ce fait plusieurs méthodes de reconstitution d'haplotypes à partir d'une phase gamétique non connue ont été élaborées et testées. Adkins (2004) a notamment testé les méthodes courantes de reconstitution d'haplotypes (P-EM, PHASE, SNPHAP, Haplotyper) et a comparé les résultats des méthodes statistiques aux haplotypes connus. Toutes les méthodes permettent une bonne précision dans la reconstitution des haplotypes. De plus, le potentiel de détection d'haplotypes de fréquence rare (1%) est correct. La reconstitution d'haplotype est considérée comme acceptable lorsque au maximum le nombre de site hétérozygote est inférieur à 5 (10% d'erreur).

2.4 – Exemple de projets en cours

La poursuite de nos recherches concerne plus particulièrement deux espèces (déjà évoquées dans la partie 1) qui présentent de nombreuses différences sur le plan taxonomique, écologique, évolutif et économique mais qui ont en commun, le fait d'être distribuées sur un gradient environnemental très marqué.

Le premier projet concerne *Eucalyptus urophylla*, le second concerne le karité.

2.4.1 – Adaptation d'*Eucalyptus urophylla* selon un cline altitudinal

Plusieurs études ont mis en évidence la variation moléculaire et phénotypique chez des espèces d'eucalyptus distribuées selon des gradients altitudinaux (Shaw *et al.*, 1985; Potts et Reid, 1985; Potts et Jackson, 1986). C'est aussi le cas d'*Eucalyptus urophylla* (voir paragraphe 1.1.1.), originaire de la partie orientale de l'Indonésie et du Timor Leste, et distribuée selon une altitude variant de 200 à 3000 m sur les sols volcaniques. Les résultats concernant la structure génétique avec des marqueurs microsatellites (Tableau 1) et la variation de caractères d'adaptation (croissance et taux de survie) (Tableau 2 et figure 1) (Tripania *et al.*, soumis) ont montré qu'un cline environnemental était particulièrement marqué : on note en effet une forte variation des caractères de croissance ($Q_{st}=0.07-0.33$), malgré un flux de gènes important ($F_{st}=0.04$).

- **Objectifs et questions de recherche**

Notre objectif est de comprendre les mécanismes adaptatifs développés par l'*Eucalyptus urophylla* pour occuper ce gradient altitudinal très marqué.

Nous souhaitons développer une approche plus intégrée de l'adaptation que celle que nous avons développée jusqu'à présent en associant un éventail plus large de disciplines (écologie fonctionnelle et génétique) et en approfondissant les bases moléculaires de l'adaptation.

Les questions de recherches relatives à ce projet sont contenues dans les enjeux scientifiques présentés au paragraphe 2.1. Elles évolueront au fur et à mesure de sa mise en œuvre. A titre d'illustration nous donnons deux catégories de questions.

Sur le plan phénotypique : (i) Quel est le déterminisme génétique des caractères liés à l'adaptation au sein des populations distribuées selon le cline environnemental ? (ii) Quel est le degré de plasticité phénotypique selon le gradient ? Le niveau d'intégration des caractères évolue-t-il selon le gradient ?

Sur le plan moléculaire: (i) quel est le niveau de variation nucléotidique au sein des gènes pour des populations échantillonnées selon le gradient altitudinal ? (ii) cette variabilité est elle le résultat des effets de la sélection naturelle ? (iii) quelle est la relation entre cette variation nucléotidique (et les formes haplotypiques) et la variation phénotypique ?

- **Principes méthodologiques**

Les caractères phénotypiques devront être définis de façon à refléter le fonctionnement de l'arbre face au stress (voir Cornelissen et al 2003) :

- Les rythmes de croissance,
- la morphologie des organes végétatifs et reproducteurs,
- les paramètres écophysiologiques,
- les caractères liés aux propriétés mécaniques du bois, etc.....

Encadré 5 : Les gènes identifiés chez *Eucalyptus*

Le développement de la génomique chez les eucalyptus (souligné par les actes du dernier congrès IUFRO à Pretoria Afrique du Sud en novembre 2005, "Tree Biotechnology 2005"), montre qu'un nombre de plus en plus important de gènes est en cours d'identification chez les eucalyptus. Nous donnons ici une vue des gènes connus qui peuvent être impliqués dans la recherche des effets de l'adaptation.

Les gènes intervenant dans la xylogénèse

Les gènes impliqués dans la chaîne de biosynthèse des lignines sont parmi les plus connus chez les eucalyptus (Myburg et al. sous presse). Certains ont été isolés et clonés (Grima-Pettenati, 1993) et positionnés sur les cartes génétiques (Gion et al., 2000). Ils sont parmi les premiers concernés dans les analyses de diversité nucléotidique (tableau 9).

De nouveaux résultats ont mis en évidence chez eucalyptus (*Eucalyptus globulus*) le rôle des gènes de régulation dans l'expression des gènes impliqués dans la chaîne de biosynthèse de la lignine. Goicoechea et al. (2005) a notamment mis en évidence le rôle de la famille de gènes MYB et plus particulièrement du gène *EgMYB2* dans la régulation de des gènes CCR et CAD. Les résultats ont montré le rôle de ce type de gènes de régulation qui co-ordonne l'expression des gènes intervenant dans la chaîne des monolignols et en conséquence dans la chaîne de biosynthèse des lignines et la régulation de la formation des parois secondaires des cellules.

D'autres gènes impliqués dans la xylogénèse, notamment dans la formation de la cellulose, ont été mis en évidence chez *E. grandis* (Ranik et Myburg, 2006). Il s'agit de *EgCesA1* à *EgCesA6* appartenant à une famille de gènes codant pour les composantes d'un complexe d'enzymes impliqués dans la membrane cellulaire (enzyme de type cellulose synthase). Les gènes *EgCesA1-6* se séparent en deux groupes, *EgCesA1-3* correspondent à 3 gènes co-régulés exprimés dans des tissus issus de la biosynthèse secondaire des parois cellulaires l'autre groupe *EgCes4-5* est impliqué dans la biosynthèse primaire des parois cellulaires. *EgCes6* est très peu exprimé et le tissu où il s'exprime reste à confirmer.

Les gènes de résistance au froid

Les travaux sur les gènes impliqués dans la résistance au froid intéressent les espèces d'eucalyptus originaires et plantées dans le sud de l'Australie (et Tasmanie) et dans les zones méditerranéennes et sub-méditerranéennes en Europe mais aussi dans les zones d'altitude en milieu tropical. Les travaux récents ont permis d'isoler et d'étudier le profil d'expression de près de 2000 ESTs liées à la régulation de la résistance au froid (Keller et al., 2005). Ces mêmes travaux ont isolés 2 gènes entrant dans la régulation d'autres gènes impliqués dans la réponse au froid : il s'agit de gènes CBF1 isolés à partir d'*Eucalyptus gunii* (*EguCBF1a* et *EguCBF1b*) (El Kayal et al., 2005).

D'autres gènes intervenant dans la résistance au froid ont été mis en évidence. Il s'agit de *EgSXD1* (*Eucalyptus gunii* sucrose export defective 1) qui pourrait coder pour l'enzyme tocopherol cyclase. La sous expression de ce gène est associé à une meilleure résistance au froid et à une diminution du tocophérol dans les feuilles (El Kayal et al., 2006) ce qui semble souligné une fonction différente de la protection directe par des antioxydant comme dans le cas de la sécheresse ou de la salinité.

Autres types de gènes

Thamarus et al. (2002) a positionné sur la carte génétique d'*Eucalyptus globulus* 14 gènes de fonction connue, certains déjà évoqués dans la xylogénèse, d'autres correspondant à des fonctions telles que la floraison ; 2 gènes homologues d'AGAMOUS (*AGE* et *AGE2*, Harcourt et al., 1995), un *APETALA 1* (*EAP1*, Kyoizuka et al., 1997) et un homologue de *LEAFY* (*ELF1*, Southern et al., 1998). Watson et Brill (2004) ont isolé d'autres gènes en liaison avec la floraison : *EgrMADS 3* and *EgrMADS 4*.

Fairbairn et al., (2000) ont isolé deux gènes *EchKT1* et *EchKT2* intervenant dans le transport du potassium à partir d'ADN complémentaire d'*E. camaldulensis*. Bien que leur rôle soit mal défini ces deux gènes semblent jouer un rôle important dans le transport du potassium.

Encadré 6 : La notion de plasticité moléculaire pour aborder la question : quels gènes pour quels caractères ?

En complément des informations générées par d'autres équipes et accessible dans les bases de données génomique, notre équipe s'est engagée dans la recherche des gènes impliqués dans le stress hydrique chez eucalyptus. Un du projet jeune équipe INRA-CIRAD, élaboré conjointement avec nos collègues de l'UMR 1202 BIOGECO-Equipe génétique en mai 2005 (Christophe Plomion (leader du projet), Grégoire le Provost) et du CIRAD (JM Gion) "bases moléculaires de l'adaptation aux contraintes hydriques chez les arbres forestiers : plasticité et diversité".

Dans ce projet, notre objectif est de travailler sur les gènes exprimés lors du stress hydrique. Les arbres ont mis en place différents mécanismes de résistance à la sécheresse (éviterment/tolérance voir revue de Ramanjulu et Bartels, 2002) et les études ont montré que certains caractères globaux comme l'efficacité d'utilisation de l'eau était sous forte déterminisme génétique (Brendel et al., 2002 ; Casasoli et al., 2004). Trois espèces sont impliquées : le pin maritime, le chêne et l'eucalyptus. En ce qui concerne l'eucalyptus, nous tenterons de répondre aux questions suivantes. Quelle la norme de réaction des clones mesurée au travers du profil d'expression transcriptomique et protéomique ? Y-a-t-il des ressemblances fonctionnelles, structurales entre les gènes appartenant ? Existe-t-il une relation entre norme de réaction phénotypique et moléculaire ? La plasticité moléculaire est-elle génétiquement contrôlée ?

Pour répondre à ces questions nous réaliserons :

- la mise en place d'un dispositif sous serre en milieu contrôlé testant deux niveaux de stress au niveau alimentation hydrique sur deux ou trois clones d'eucalyptus hybrides : un milieu non stressé (apport d'eau égal à 100% de l'eau transpirée) et milieu stressé (apport d'eau égal à 50% de l'eau transpirée)
- la caractérisation écophysologique et histologique des génotypes : des mesures comme le taux de transpiration, la conductance stomatique, le δC_{13} , le potentiel hydrique du xylème des feuilles, la biomasse aérienne seront réalisées sur les clones installés selon le plan d'expérience décrit ci-dessus,
- la réalisation d'un microarray à partir de banques SSH de xylème d'eucalyptus : 25000 séquences sont disponibles et serviront à la réalisation d'un microarray qui permettront d'analyser l'expression des gènes des tissus conducteurs,
- l'analyse d'expression des gènes.

Pour *Europhylla* nous avons accès à des essais de provenances installés sur le terrain dans deux stations en zones tropicales humide et des ressources génétiques sous forme de graines stockées en chambre froide. Celles-ci pourront être utilisées pour la mise en place de nouveaux essais en milieu contrôlé.

Les ressources génomiques, encore modestes, sont en développement chez les eucalyptus au sein de plusieurs équipes dont notre UPR en collaboration avec plusieurs partenaires français (voir ci-après).

Le patron de diversité au sein des populations offre un dispositif particulièrement approprié pour étudier la façon dont la sélection naturelle façonne la diversité nucléotidique au sein des gènes liés à l'adaptation car les effets de différenciation par dérive génétique sont limités et l'impact environnemental est très net. A ce stade nous pouvons opter pour plusieurs stratégies:

- soit faire un scan important du génome par des marqueurs du type AFLP et repérer les zones du génome qui semblent subir un effet de la sélection naturelle,
- soit faire une analyse de la diversité nucléotidique à partir de gènes candidats sélectionnés au sein des bases de données et censés jouer un rôle dans l'adaptation des espèces forestières. A priori nous choisirons la deuxième approche partant du principe que de nombreuses ressources génomiques sont disponibles chez les eucalyptus (voir encadré 5) et se développeront dans les prochaines années.
- soit développer des ressources génomiques à partir d'expériences d'expression différentielle face au stress. C'est ce que nous visons dans le projet décrit dans l'encadré 6.

2.4.2 - Adaptation du Karité : du sahélien au soudano-guinéen

Les plantes, et les arbres en particuliers, ont développé de nombreux mécanismes d'adaptation au régime hydrique sur le plan morphologique (Abrams, 1994 ; Roupsard, 1997 ; Fonseca *et al.*, 2000 ; Susko et Lovett-Doust, 2000; Murray *et al.*, 2004; Moles *et al.*, 2005) et physiologique (Abrams, 1994 ; O'Neill *et al.*, 2003).

Pour le karité (paragraphe 1.1.3), malgré une différenciation marquée pour la morphologie des feuilles, des fruits, des graines et pour la croissance juvénile, on note une absence de relation entre variation phénotypique et régime pluviométrique (Sanou *et al.*, 2005; Sanou *et al.*, 2006).

D'autres études ont été conduites sur la variation des constituants des amandes (acides gras, acides insaturés (glycerides) et la partie non saponifiable (polyphénols etc..)) selon le gradient nord sud. Certains constituants varient selon cet axe, notamment les tocophérols (Vitamine E) plus abondants en zone sahélienne (Maranz et Wiesman, 2004), et les acides gras, plus abondants dans les amandes provenant du sahel (Maranz et Wiesman, 2003). La variation semble plus complexe pour les constituants phénoliques qui ne montrent pas de réel gradient (Maranz *et al.*, 2004).

Ces résultats, bien qu'importants pour formuler de nouvelles hypothèses, ne constituent qu'une première étape dans la compréhension des mécanismes adaptatifs du karité. Ils restent basés pour les constituants des graines sur un effectif d'échantillonnage trop limité pour fournir des résultats définitifs sur le plan statistique. De plus le gradient pluviométrique n'a été que partiellement couvert et la tendance est peut être masquée par la faible représentation des populations extrêmes. Enfin les caractères que nous avons mesurés ne sont pas les plus pertinents : par exemple pour les feuilles, de nouveaux caractères sont à prendre en compte

tels que la surface spécifique des feuilles (rapport surface sur masse sèche) ou des paramètres écophysiologiques.

Comme nous l'avons souligné dans la première partie, pour le karité, un degré de complexité supplémentaire apparaît avec le processus de domestication. On ne connaît pas les caractères visés par ce processus et son ampleur mais son impact sur l'expression de la diversité devra être pris en compte pour différencier la diversité résultant de l'adaptation.

- **Nouvelles questions de recherche**

Nos questions relèvent des enjeux scientifiques que nous avons définis au 2.1.1. A titre d'illustration nous présentons quelques exemples:

- Quels sont les patrons de variation des traits liés au fonctionnement de l'arbres selon le gradient environnemental : traits d'histoire de vie, morphologie des organes végétatifs et reproducteurs, mécanismes physiologiques d'adaptation à la sécheresse ?
- Quelle est la variation nucléotidique des gènes qui sous tendent les composantes de ces caractères phénotypiques ?
- Existe t-il un patron de variation différent entre les caractères : ceux impliqués a priori dans le processus de domestication et ceux ne l'étant pas ?
- Le degré de plasticité et d'intégration phénotypique varie t-il en fonction du gradient environnemental ?

- **Ressources expérimentales**

Nous disposons pour cette espèce d'un important réseau de placettes permanentes d'expérimentation implanté au Mali en collaboration avec les structures de recherches locales. Des expérimentations sont installées en milieu contrôlé (stade de jeunes semis en pépinière et essai de provenance au champ) pour mesurer la variation inter et intra population.

- **Ressources génomiques**

Notre projet scientifique tout en recherchant l'intégration de plusieurs disciplines focalisera une partie de son activité sur les bases moléculaires de l'adaptation. Les ressources génomiques pour le karité sont inexistantes. Par contre de nombreux travaux sont en cours sur la relation gène-phénotype pour la résistance à la sécheresse et pour les caractères liés à la taille des organes (graines, feuilles) et les constituants protéiques et lipidiques des graines chez plusieurs autres espèces modèles.

Pour les constituants en acide gras des graines, plusieurs travaux sur *Arabidopsis* ont permis des avancées sur les étapes de la biosynthèse des corps gras et sur les gènes impliquées (Beisson *et al.*, 2003). Dans le cadre du projet, notre stratégie, dans un premier temps, consistera à définir des séquences orthologues à partir des bases de données en utilisant des gènes candidats identifiés chez les espèces les plus avancées.

Pour la résistance à la sécheresse, notamment au stress hydrique, les travaux de génomique chez les espèces forestières ont démarré récemment. Ils ont consisté à établir des banques d'ESTs dans le cadre d'expérience testant des conditions différentielles de stress hydriques (Dubos *et al.*, 2003) ou testant le comportement d'individus transformés (El-Khatib *et al.*, 2004). Les travaux réalisés sur les espèces modèles ou les plantes de grandes cultures soulignent le nombre important de gènes intervenant dans la résistance au stress hydrique. La recherche de gènes orthologues pourra aussi s'établir à partir de ces données.

2.5 - Conclusion

Les recherches sur les facteurs influençant la diversité au sein des espèces forestières ont fourni de nombreux résultats généraux pour caractériser les espèces forestières (Hamrick et al., 1992 ; Hamrick et Godt, 1996) par rapport aux autres plantes. L'exploration de la diversité adaptative a été très active chez les espèces forestières en liaison avec les programmes d'amélioration (Zobel et Talbert, 1984). Ceci étant, le concept d'adaptation locale apparaît comme un paradigme suscitant de nombreuses questions biologiques et couvrant des enjeux environnementaux majeurs (Kawecki et Ebert, 2004).

Dans ce cadre, notre projet de recherche a pour ambition de mieux comprendre la façon dont la sélection naturelle façonne le fonctionnement intégré des arbres. Nous nous situons sur des gradients environnementaux marqués où les effets de dérive génétique apparaissent limités par rapport aux effets de la sélection naturelle.

Les enjeux scientifiques concernent l'impact de la sélection naturelle sur la structure et le fonctionnement des gènes, sur la plasticité et l'intégration phénotypique des caractères liés à la « fitness ».

Notre stratégie associe plusieurs disciplines : génétique quantitative et des populations, génomique et écologie fonctionnelle et plusieurs approches expérimentales : populations in situ, dispositif d'étude de l'interaction génotype*environnement en milieu contrôlé ou au champ.

Nous envisageons, sur le court et moyen terme, de mettre en œuvre nos recherches sur deux espèces différentes sur les plans taxonomiques, écologiques et des enjeux de développement.

CONCLUSION GENERALE

Les premières activités de recherche sur l'adaptation des arbres forestiers tropicaux ont débuté il y a 50 ans, avec les tris d'espèces introduites comme exotiques pour le développement de plantations. Un lot de graines "représentatif" d'une espèce était introduit et comparé aux lots d'autres espèces permettant de sélectionner les plus adaptées et présentant le meilleur potentiel sur le plan sylvicole : croissance, forme, résistance aux parasites etc.

Le concept d'adaptation a pris un sens plus précis avec la notion de provenances, représentatives de la distribution géographique de l'espèce. L'analyse de leur performance sur différents sites a montré qu'une variation importante était présente au sein des espèces. Cette variation s'exprimait pour des caractères tels que la production en volume mais aussi pour des traits d'histoire de vie, de morphologie d'organes végétatifs ou floraux ou de caractères liés aux propriétés mécaniques et chimiques du bois.

Le développement des marqueurs moléculaires dit "neutre" a facilité la compréhension de l'origine de cette variation. Plusieurs facteurs évolutifs tels que la sélection naturelle, les effets de hasard.., ont été étudiés conjointement à d'autres caractéristiques telles que les traits d'histoire de vie de l'espèce, les modes dissémination des gènes, l'isolement géographique des populations, les gradients environnementaux, les facteurs biotiques, l'activité humaine etc..

C'est dans ce contexte, à travers trois problématiques, l'impact de clines altitudinaux, les effets de l'insularité et les conséquences de la domestication, que nous avons mesuré les effets des forces évolutives selon différentes échelles de temps et d'espace et souligné l'importance des mécanismes d'adaptation dans l'expression de la diversité.

L'expression de la variabilité au sein des populations a été plus particulièrement abordée avec le genre *Eucalyptus*. Nos recherches ont fourni des résultats robustes sur l'évolution des composantes de la variance au cours du développement de l'arbre pour plusieurs types de caractères : caractères de tailles, morphologie et propriété du bois. L'analyse des effets de compétition inter arbres sur l'expression de cette variabilité et sa traduction en terme de plasticité et d'intégration phénotypique ont souligné la forte plasticité des eucalyptus et suggéré quelques hypothèses sur le fonctionnement des gènes.

Globalement, nos conclusions rejoignent d'autres travaux sur les espèces végétales indiquant que la diversité s'exprime fortement en milieu naturel. Sous la forme moléculaire ou phénotypique, elle apparaît très structurée et positivement corrélée à l'hétérogénéité du milieu et des stress qu'ils soient de nature biotique et abiotique (Nevo, 2001). Selon ce même auteur, l'évolution de la biodiversité, même dans des populations isolées de petite taille, est avant tout guidée par la sélection naturelle interagissant avec, mais in fine outrepassant, les effets de la mutation, de migration ou du hasard.

Partant de ce constat et compte tenu de nos activités au cours des vingt dernières années, nos recherches se sont orientées vers la compréhension des déterminants de l'adaptation au sein des espèces forestières en intégrant des questions de génétique évolutive et d'écologie fonctionnelle.

Notre projet de recherche vise plus particulièrement à comprendre l'effet de la sélection naturelle sur le fonctionnement de l'arbre le long de gradients environnementaux au travers d'une approche phénotypique et moléculaire.

La stratégie consiste à associer les nouvelles méthodes et connaissances apportées par la génomique aux modèles classiques de génétique des populations et de génétique quantitative ainsi qu'aux concepts d'écologie fonctionnelle.

Les nouveaux enjeux scientifiques concernent les bases moléculaires de l'adaptation en relation avec l'impact de la sélection naturelle sur les normes de réactions et la plasticité et l'intégration phénotypique selon une approche basée sur le fonctionnement de la plante.

Notre activité se focalisera sur deux espèces. L'apport de la génomique pourra se concrétiser très rapidement avec le genre *Eucalyptus* dont le génome est en cours de séquençage. Pour des espèces non modèles, comme le karité, des efforts doivent être développés pour construire des ressources génomiques. Dans un premier temps il faudra compter sur les ressources présentes chez d'autres espèces modèles et chercher une efficacité d'application des résultats.

Références bibliographiques du mémoire

Abrams M D (1994). Genotypic and phenotypic variation as stress adaptations in temperate tree species: a review of several case studies *Tree Physiology*, 14:833–842

Adkins R M (2004). Comparison of the accuracy of methods of computational haplotype inference using a large empirical dataset. *BMC genetics*, 5:22 doi:101186/1471-2156-5-22

Balocchi C E, Bridgwater F E, Zobel B J, Jahromi S (1993). Age trends in genetic parameters for tree height in a nonselected population of loblolly pine. *Forest Science*, 39: 231-251.

Barrett S C H (1998). The reproductive biology and genetics of island plants. In P. R. Grant [ed.], *Evolution on islands*, 18–34. Oxford University Press, Oxford, UK

Baradat P (1986). Variabilité génétique et système de reproduction. Amélioration génétique des arbres forestiers. Numéro spécial de la Revue Forestière Française: 26-38.

Baradat P, Labbe T, **Bouvet J-M** (1995). Conception d'index pour la sélection réciproque récurrente : aspects génétiques, statistique et informatiques. In : traitements des données statistiques des essais de sélection : stratégies d'amélioration des plantes pérennes. Montpellier, France, 101-150.

Baril C, Verhaegen D, Vigneron Ph, **Bouvet J-M**, Kremer A (1997a). Structure of the specific combining ability between two species of *Eucalyptus* I. RAPD Data. *Theoretical Applied Genetics*, 94 : 796-803.

Baril C, Verhaegen D, Vigneron Ph, **Bouvet J-M**, Kremer A (1997b). Structure of the specific combining ability between two species of *Eucalyptus* II. A clustering approach and a multiplicative model : *Theoretical Applied Genetics*, 94 : 804-809.

Beaumont M A, Balding D J B (2004). Identifying adaptive genetic divergence among populations from genome scans. *Molecular Ecology*, 13: 969-980.

Beisson F, Koo A, Ruuska S, Schwender J, Pollard M, Thelen J, Paddock T, Salas J, Savage L, Milcamps A, et al (2003) Arabidopsis genes involved in acyl lipid metabolism. A 2003 census of the candidates, a study of the distribution of expressed sequence tags in organs, and a Web-based database. *Plant Physiol* 132: 681–697

Bhalerao R, Nilsson O, Sandberg G (2003). Out of the woods: forest biotechnology enters the genomic era. *Current Opinion in Biotechnology*, 14(2) : 206-213.

Blondel J. (1995). *Biogéographie Approche écologique et évolutive*. Masson, Paris.

Boerjan W (2005) Biotechnology and the domestication of forest trees. *Current Opinion in Biotechnology*, 16:159–166

Boffa J-M (1999). Agroforestry parklands in Sub-Saharan Africa. FAO Conservation Guide 34. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy.

Bottin L, Verhaegen D, Tassin J, Olivieri I, Vaillant A, **Bouvet J-M** (2005) Genetic diversity and population structure of an insular tree, *Santalum austrocaledonicum* in New Caledonian archipelago. *Molecular Ecology*, 14: 1979-1989.

Bottin L, Tassin J, Nasi R, **Bouvet J-M** (2006) Molecular, quantitative and abiotic variables for the delineation of evolutionary significant units: case of sandalwood (*Santalum austrocaledonicum* Vieillard) in New Caledonia (accepté à *Conservation genetics*)

Bottin L (2006) Déterminants de la variation moléculaire et phénotypique d'une espèce forestière en milieu insulaire : cas de *Santalum austrocaledonicum* en Nouvelle-Calédonie Thèse de doctorat de l'Ecole Supérieure d'Agronomie de Montpellier Ecole Doctorale Biologie Intégrative. 130p + annexes.

Bouvet J-M (1982). Note sur l'essai de provenance *Eucalyptus urophylla* des îles d'Alor, Wetar et Pantar. Parcelles 75.3 à 75.7. Centre Technique Forestier Tropical du Congo. rapport interne Cirad, 8p + annexes

Bouvet J-M (1983). Introduction d'*Eucalyptus alba* à Pointe-Noire. Centre technique forestier tropical du Congo. rapport interne Cirad, 15p.

Bouvet J-M (1988). Test de provenances d'E.grandis n°73/4 évaluation de l'héritabilité et de gain génotypique sur les caractères de croissance.. rapport interne Cirad, 16p.

Bouvet J-M, Ranaivoson L, Rakotovao Z (1988). Essai de provenances d'E.grandis à Madagascar. Résultats à l'âge de 14 ans. rapport interne Cirad, 16p.

Bouvet J.M (1991). Analyse des tests clonaux d'Eucalyptus hybrides. Réflexions sur la méthodologie de sélection. Mémoire de DEA : *Ressources génétiques et amélioration des plantes*, Institut National Agronomique Paris-Grignon, 30 septembre 1991

Bouvet J-M (1992). Geno-Phenotypic regression and juvenile-mature correlations : Methodological Tools for clonal selection of Eucalyptus hybrides in Congo. *South African Forestry Journal*, 160: 21-26.

Bouvet JM (1995a). Evolution de la variabilité avec l'âge et corrélation juvénile-adulte dans les populations d'eucalyptus. Thèse de doctorat INAPG. 296 p

Bouvet J-M (1995b). Sélection précoce de l'eucalyptus au Congo. *Revue Bois et Forêts des Tropiques*, 246: 23-32.

Bouvet J-M (1997). Effect of spacing on juvenile growth and variability of eucalyptus clones. *Canadian Journal of Forestry Research*, 27: 174-179.

Bouvet J-M (1999). Les plantations d'Eucalyptus : évolutions récentes et perspectives. *Revue le Flamboyant*, 49 : 4-15.

Bouvet J-M, Delwaulle J-C (1983). Introduction de l'*Eucalyptus cloeziana* au Congo – parcelle 77-13. *Revue Bois et Forêts des Tropiques*, 200 : 7-20.

Bouvet J-M, Andrianirina G (1990). L'*Eucalyptus grandis* à Madagascar, potentialités, bilan et orientations des travaux d'amélioration génétique.. *Revue Bois et Forêts des Tropiques*, 226: 4ème trimestre 1990

Bouvet J-M, Vigneron Ph (1995). Age trends in variances and heritabilities in *Eucalyptus* factorial mating designs. *Silvae genetica* 44,4: 206-216.

Bouvet J-M, Baillères H (1995). Expression of some Growth and Wood properties Traits Among *Eucalyptus urophylla* x *grandis* clones in Congo. Proceedings de la conférence CRCTHF-IUFRO : Eucalypt plantation : improving fibre yield and quality. Hobart, Australie 19-24 février 1995, pp. 89-92

Bouvet J-M, Vigneron Ph (1996). Variance Structure in Eucalyptus Hybrid Populations. In *Silvae Genetica*, 45, 2-3: 171-177.

Bouvet JM, Vigneron Ph, Saya A, Gouma R (2003). Trends in variances and heritabilities with age for growth traits in eucalyptus spacing experiments. *Silvae genetica*, 52, 3-4: 121-133.

Bouvet, J-M, Fontaine C, Sanou H, Cardi C (2004a). An analysis of the pattern of genetic variation in *Vitellaria paradoxa* using RAPD markers. *Agroforestry System*, 60 : 61-69.

Bouvet J-M, Vigneron Ph, Saya A, Gouma R (2004b). Early selection of *Eucalyptus* clones at nursery stage using growth, morphological and dry matter criteria. *South African Forestry Journal*, 200, 3-15.

Bouvet J-M, Vigneron Ph, Saya A (2005). Phenotypic plasticity of growth trajectories and ontogenic allometry in response to density in eucalyptus clones and families. *Annals of Botany*, 96: 811-821.

- Brendel O, Pot D, Plomion C, Rozenberg P, Guehl JM (2002). Genetic parameters and QTL analysis of $\delta^{13}\text{C}$ and ring width in maritime pine. *Plant Cell Env* 25: 945-953.
- Brunner AM, Nilsson O (2004). Revisiting tree maturation and floral initiation in the poplar functional genomics era. *New Phytologist* 164: 43–51
- Brouard J S, John S. (1999). Tree spacing affects clonal ranking in *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla* hybrids. *Journal of Sustainable Forestry*, 10 : 13-23
- Brown G R, Gill G P, Kuntz R J, Langley C H, Neale D B (2004). Nucleotide diversity and linkage disequilibrium in loblolly pine. *PNAS*, 101(42) : 15255-15260.
- Butaud J-F, Rives F, Verhaegen D, **Bouvet JM** (2005). Distribution of chloroplastic microsatellite diversity in *Santalum insulare* across the South east Pacific archipelagos *Journal of Biogeography*, 32: 1763-1774.
- Butaud J-F (2006). Contribution à la connaissance d'un arbre insulaire en voie de disparition, le santal de polynésie française (*Santalum insulare*) : Etudes écologique, morphologique, génétique et chimique. Thèse de Doctorat de l'Université de Polynésie Française. 398 p + annexes.
- Campbell M M, Brunner A M, Jones H M, Strauss S H (2003). Forestry's fertile crescent: the application of biotechnology to forest trees *Plant Biotechnology Journal*, 1 : 141–154
- Cannon, C.H., and Manos, P.S. 2003. Phylogeography of the Southeast Asian stone oaks (*Lithocarpus*) *Journal of Biogeography* 30(2) 211-226.
- Carlquist S (1980). *Hawai'i: a Natural History. Geology, Climate, Native Flora and Fauna above the Shoreline*. 2nd edn. Pacific Tropical Botanical Garden, Lawa'i Hawa'i.
- Cavers S, Navarro C, Lowe A J (2003). A combination of molecular markers identifies evolutionarily significant units in *Cedrela odorata* L. (Meliaceae) in Costa Rica, *Conservation genetics*, 4: 571-580.
- Casasoli M, Pot D, Plomion C, Monteverdi MC, Barreneche T, Lauteri M, Villani F (2004) Identification of QTLs affecting adaptive traits in *Castanea sativa* Mill. *Plant Cell Environment*, 24: 1088-1101
- Combes J-G, **Bouvet J-M**, Baillères H (1997). Analyses of growth, morphological and wood properties traits in ortet populations of eucalyptus in the Congo. Proceedings du Congrès IUFRO «Conference on Silviculture and Improvement of Eucalypts» 24-29 août 1997, Salvador, Brésil, 37-42.
- Cordell S, Goldstein G, Mueller-Dombois D, Webb D, Vitousek PM (1998). Physiological and morphological variation in *Metrosideros polymorpha*, a dominant Hawaiian tree species, along an altitudinal gradient: role of phenotypic plasticity. *Oecologia*, 113: 188–196.
- Cordell S, Goldstein G, Meinzer FC, Handley L. L. (1999). Allocation of nitrogen and carbon in leaves of *Metrosideros polymorpha* regulates carboxylation capacity and $\delta^{13}\text{C}$ along an altitudinal gradient. *Functional Ecology*, 13, 811 doi:10.1046/j.1365-2435.1999.00381.x
- Cornelissen J H C, Lavorel S, Garnier E , Daz S, Buchmann N, Gurvich D E, Reich P B, ter Steege H, Morgan H D, van der Heijden M G A, Pausas JG, Poorter H (2003). Handbook of protocols for standardised and easy measurement of plant functional traits worldwide. *Australian Journal of Botany*, 51:335-380.
- Cornillon P A, Saint André L, **Bouvet J-M**, Vigneron P (2002). selecting eucalyptus clones on growth curves using B-splines. *Forest Ecology and Management*, 176: 75-85.
- Costa e Silva J, Borralho N M G, Potts B M (2004). Additive and non-additive genetic parameters from clonally replicated and seedling progenies of *Eucalyptus globulus*: *Theoretical and Applied Genetics*, 108 : 1113-1119.

- Cotterill P P, Dean C A, Wyk G van (1987). Additive and dominance genetic effects in *Pinus pinaster*, *P. radiata* and *P. elliottii* and some implications for breeding strategy. *Silvae Genetica*, 36(5-6): 221-232
- Crandall K A, Bininda-Emonds O R P, Mace G M, Wayne R K (2000). Considering evolutionary processes in conservation biology. *Trends in Ecology and Evolution*, 15(7): 290-295.
- Danjon F (1994). Heritabilities and genetic correlations for estimated growth curve parameters in maritime pine. *Theoretical and Applied Genetics*, 89: 911-921.
- Desanker P, Magadza C (2001). Africa in Climate Change 2001: Impacts, Adaptation and Vulnerability.
- Di Fazio S P (2005) A pioneer perspective on adaptation Functional genomics of environmental adaptation in *Populus*: the 12th *New Phytologist* Symposium, Gatlinburg, TN, USA, October 2004 *New Phytologist* (2005) **165**: 655–658
- Dieters MJ, White TL, Hodge GR (1995). Genetic parameter estimates for volume from full-sib tests of slash pine (*Pinus elliottii*). *Canadian Journal of Forest Research*, 25: 1397-1408.
- Dubos C, Le Provost G, Pot D, Salin F, Lalane C, Madur D, Frigerio J-M, Plomion C (2003). Identification and characterization of water-stress-responsive genes in hydroponically grown maritime pine (*Pinus pinaster*) seedlings *Tree Physiology*, 23: 169–179.
- Dvornyk V, Sirviö A, Mikkonen M, Savolainen O (2002). Low nucleotide diversity at the *pal1* locus in the widely distributed *Pinus sylvestris*. *Molecular Biology Evolution*, 19: 179–188.
- Eldridge K, Davidson J, Harwood C, van Wyk G (1993). *Eucalypt Domestication and Breeding*. Clarendon Press Oxford.
- El Kayal W, Keller G, Debayles C, Kumar R, Weier D, Teulieres C, Marque C (2006). Regulation of tocopherol biosynthesis through transcriptional control of tocopherol cyclase during cold hardening in *Eucalyptus gunnii*. *Physiologia Plantarum*, 126: 212–223.
- El-Khatib R T, Hamerlynck E P, Gallardo F, Kirby E G (2004). Transgenic poplar characterized by ectopic expression of a pine cytosolic glutamine synthetase gene exhibits enhanced tolerance to water stress *Tree Physiology*, 24:729–736.
- El Kayal W, Navarro M, Marque G, Keller G, Marque C, Teulieres C (2005). Two CBF transcription factor genes isolated from eucalyptus differentially respond to environmental stresses. Proceedings de la conférence internationale IUFR “Tree biotechnology 2005”, 6-11 th november 2005, Pretoria South Africa.
- Emerson BC (2002) Evolution on oceanic islands: molecular phylogenetic approaches to understanding pattern and process *Molecular Ecology*, 11: 951-966.
- Evert F (1971). Spacing studies a review. In Canadian Forestry Services – Department of the Environment. Forest Management Institute. Information report FMR-X-37. 95p.
- Fairbairn D J, Liu W, Schachtman D P, Gomez-Gallego S, Day R, Teasdale R D (2000). Sharon Characterisation of two distinct HKT1-like potassium transporters from *Eucalyptus camaldulensis*. *Plant Molecular Biology*, 43: 515–525.
- Fonseca C R, Overton J M C, Collins B, Westoby M (2000). Shifts in trait-combinations along rainfall and phosphorus gradients. *Journal of Ecology*, 88, pp 964-977.
- Fontaine C, Lovett PN, Sanou H, Maley J, **Bouvet J-M** (2004) Genetic diversity of the shea tree (*Vitellaria paradoxa* C.F. Gaertn), detected by RAPD and chloroplast microsatellite markers. *Heredity*, 93: 639-648.

- Frankham R (1997). Do island populations have less genetic variation than mainland populations? *Heredity*, 78: 311-327.
- Frankham R (1998). Inbreeding and extinction: island populations. *Conservation biology*, 78: 665-675.
- Franklin E C (1979). Model relating levels of genetic variances to stand development of four North American conifers. *Silvae Genetica*, 28: 207-212.
- Gallais A (1991). *Théorie de la sélection en amélioration des plantes.*, Paris, France, Editions Masson
- García-Gil M R, Mikkonen M, Savolainen O (2003). Nucleotide diversity at two phytochrome loci along a latitudinal cline in *Pinus sylvestris*. *Molecular Ecology*, 12 : 1195-1206.
- Gion J-M, Rech P, Grima-Pettenati J, Verhaegen D, Plomion C (2000). Mapping candidate genes in Eucalyptus with emphasis on lignification genes, *Molecular Breeding*, 6: 441–449.
- Gion J-M (2001). Etude de l'architecture génétique de caractères quantitatifs chez l'Eucalyptus: des marqueurs aux gènes candidats. Thèse de doctorat de l'Université de Rennes.
- Gion J-M, Lalanne C, Le Provost G, Ferry-Dumazet H, Paiva J., Frigerio J-M, Chaumeil P, Barré A, de Daruvar A, Brach J, Claverol S., Bonneau M, Plomion C (2005). The proteome of maritime pine wood forming tissue. *Proteomics*, 5 : 3731-3751
- Givnish T J (1998). Adaptive plant evolution on islands: classical patterns, molecular data, new insights. In P. R. Grant [ed.], *Evolution on islands*, 281–304. Oxford University Press, Oxford, UK
- Goicoechea M, Lacombe E, Legay S, Mihaljevic S, Rech P, Jauneau A, Lapierre C, Pollet B, Verhaegen D, Chaubet-Gigot N, Grima-Pettenati J (2005). EgMYB2, a new transcriptional activator from Eucalyptus xylem, regulates secondary cell wall formation and lignin biosynthesis. *The Plant Journal*, 43: 553–567 doi: 10.1111/j.1365-313X.2005.02480.x
- Gonzalez-Martinez S C, Ersoz E, Brown G R, Wheeler N C, Neale D B (2005). DNA sequence variation and selection of Tag SNPs at candidate Genes for Drought-Stress Response in *Pinus taeda* L., *Genetics*, 10.1534/genetics.105.047126
- Grima-Pettenati, J., Feuillet, C., Goffner, D., Borderies, G. and Boudet, A.M. (1993) Molecular cloning and expression of a Eucalyptus gunnii cDNA clone encoding cinnamyl alcohol dehydrogenase. *Plant Molecular Biology*, 21: 1085–1095
- Guillot G, Estoup A, Mortier F, Cosso JF (2005). A spatial statistical model for landscape genetics. *Genetics*, 170: 1261-1280.
- Gwaze D P, Dungey H S, Dieters M J, Toon P G, Nikles D G (2000) Interspecific hybrids I genetic parameter estimates in Australia. *Forest Genetics* 7(1):65-75.
- Hall J B, Aebiccher D P, Thomlinson H F, Osei-Amaning E, Hindle J R (1996). *Vitellaria paradoxa*: a Monograph, School of Agricultural Sciences Publication Number 8, University of Wales, Bangor.
- Harcourt R, Kyozyuka J, Zhu X, Southerton S, Llewellyn D, Dennis E, Peacock J (1995) Genetic engineering for sterility in temperate plantation eucalypts. In: Potts BM, Borralho NMG, Reid JB, Cromer RN, Tibbits WN, Raymond CA (eds) *Eucalypt plantations: improving fibre yield and quality*. Proc.CRC-IUFRO Conf., Hobart, 19–24 Feb, CRC for Temperate Hardwood Forestry. Hobart, Tasmania, pp, 403–405
- Hamrick J L, Godt M J W, Sherman-Broyles S L (1992). Factors influencing levels of genetic diversity in woody plant species. *New Forests*, 95: 124-132.
- Hamrick J L, Godt M J W (1996). Effects of life history traits on genetic diversity in plant species. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B: Biological Sciences*, 351: 1291-1298.

Harbaugh D T (2006). Sandalwood Phylogeny: Insights for Biogeography, Conservation and Classification. Regional workshop on sandalwood research, Development and Extension in the Pacific Island and Asia (Nadi, Fiji, 28 November - 01 December 2005)

Harlan J R (1987). Les plantes cultivées et l'homme (Crops and Man). Belliard J, Fraleigh B (trads), ACCT, Paris, 414p.

Hartl D L, Clark A G (1997). *Principles of population genetics*. 3rd edn. Sunderland, MA, USA, Sinauer Associates.

House, S.M. 1997. Reproductive biology of eucalypts. In: Eucalypt Ecology: Individuals to Ecosystems. Eds J.E. Williams and J.C.Z. Woinarski, Cambridge, UK. pp. 30-55.

Howe GT, Aitken SN, Neale DB, Jermstad KD, Wheeler NC, Chen THH (2003). From genotype to phenotype: unraveling the complexities of cold adaptation in forest trees. *Canadian Journal of Botany—Revue Canadienne de Botanique*, 81: 1247–1266.

Howe G T, Brunner A M (2005). An evolving approach to understanding plant adaptation. *New Phytologist*, 167: 1–5

Hultine K R, Marshall J D (2000). Altitude trends in conifer leaf morphology and stable carbon isotope composition. *Oecologia*, 123: 32–40.

Ingvarsson P K (2005). Nucleotide polymorphism and linkage disequilibrium within and among natural populations of european aspen (*Populus tremula* L., Salicaceae). *Genetics*, 169 : 945-953.

Jackson R B, Linder C R, Lynch M, Purugganan M, Somerville S, Thayer S S (2002). Linking molecular insight and ecological research. *Trends in Ecology & Evolution*, 17:409-414.

Järvinen P, Lemmetyinen J, Savolainen O, Sopanen T (2003). DNA sequence variation in BpMADS2 gene in two populations of *Betula pendula*. *Molecular Ecology*, 12 : 369 - 384. doi:10.1046/j.1365-294X.2003.01740.x

Joshi J, Schmid B, Caldeira M C, Dimitrakopoulos P G, Good J, Harris R, Hector A, Huss-Danell K, Jumpponen A, Minns A, Mulder CPH, Pereira JS, Prinz A, Scherer-Lorenzen M, Siamantziouras A-D S, Terry AC, Troumbis AY, Lawton JH (2001). Local adaptation enhances performance of common plant species. *Ecology Letters*, 4: 536 - 544 doi:10.1046/j.1461-0248.2001.00262.x

Jump A S, Peñuelas J (2005). Running to stand still: adaptation and the response of plants to rapid climate change. *Ecology Letters*, 8 :1010 - 1020 doi:10.1111/j.1461-0248.2005.00796.x

Kado T, Yoshimaru H, Tsumura Y and Tachida H (2003). DNA variation in a conifer, *Cryptomeria japonica* (Cupressaceae sensu Lato). *Genetics*, 164 : 1547-1559.

Kawano S, Hara T (1995). Optimal balance between propagule output, propagule size, and cost of propagule production in plants with special reference to its evolutionary-ecological implications. *Plant Species Biology*, 10: 119-125.

Kawecki T J , Ebert D (2004). Conceptual issues in local adaptation *Ecology Letters*, 7: 1225 - 1241 doi:10.1111/j.1461-0248.2004.00684.x

Keller G, El Kayal W, San Clemente H, Ladouce N, Teulières C, Marque C (2005). Isolated and expressional analysis of 1995 cold-regulated ESTs from eucalyptus. Proceedings de la conférence internationale IUFR “Tree biotechnology 2005”, 6-11 th november 2005, Pretoria South Africa.

Kelly, B A, **Bouvet J-M**, Picard N (2004a). Size class distribution and spatial pattern of *Vitellaria paradoxa* in relation to farmers practices in Mali. *Agroforestry System*, 60 : 3-11.

Kelly B A, Hardy O, **Bouvet J-M** (2004b). Temporal and spatial genetic structure of *Vitellaria paradoxa* (shea tree) in agroforestry system in southern Mali. *Molecular Ecology*, 13 : 1231-1240.

Kelly B A, Gourlet-Fleury S, **Bouvet J-M**. Impact of agricultural practises on the flowering phenology of *Vitellaria paradoxa* in parklands in southern Mali (soumis à agroforestry systems)

Kelly BA (2005). Impact des pratiques humaines sur la dynamique et la diversité génétique des populations de *Vitellaria paradoxa* (Karité) dans les systèmes agroforestiers du Sud Mali. Thèse de Doctorat de l'Institut supérieur de formation et de recherche appliquée. Université de Bamako. 242p + annexes

Kim Y, Nielsen R (2004). Linkage disequilibrium as a signature of selective sweeps, *Genetics*, 167:1513-1524.

Kleinschmit J R G, Kownatzki D, Gregorius H-R (2004). Adaptational characteristics of autochthonous populations - consequences for provenance delineation. *Forest Ecology and Management* 197(1/3): 213-224. doi:10.1016/j.foreco.2004.05.037.

Kremer A (1981). Déterminisme de la croissance en hauteur du pin maritime (*Pinus pineaster* AIT.). III Evolution des composantes de la variance phénotypique et génotypique. *Annales des sciences Forestières*, 38: 355-375.

Krutovski K V, Neale D B (2005). Nucleotide diversity and linkage disequilibrium in cold hardiness and wood quality related candidate genes in Douglas-fir. *Genetics* 10.1534/genetics.105.044420

Kyozuka J, Harcourt R, Peacock W J, Dennis E S (1997). Eucalyptus has functional equivalents of the Arabidopsis AP1 gene. *Plant Molecular Biology* 35(5): 573-584

Labate C, de Andrade A, Celedon P F, Xavier K G, Oda S (2005). Proteomic analysis of wood formation at different stages of development of Eucalyptus grandis. Proceedings de la conférence internationale IUFR "Tree biotechnology 2005", 6-11 th november 2005, Pretoria South Africa.

Latta R G (2003). Gene flow, adaptive population divergence and comparative population structure across loci. *New Phytologist*, 161(1): 51-58. doi: 10.1046/j.1469-8137.2003.00920.x.

Le Corre V, Kremer A (2003). Genetic variability at neutral markers, quantitative trait in a subdivided population under selection. *Genetics*, 164(3):1205-1219.

Lefèvre F (2002). Domestication et gestion des ressources génétiques forestières. Mémoire et notice de travaux pour le diplôme d'habilitation à diriger des recherches. Université de Montpellier II. s38 p.

Lhuillier E, Butaud J-F, Bouvet J-M. Extensive clonality and strong differentiation in the insular Pacific tree *Santalum insulare*: implications for its conservation. (soumis à Annals of Botany Février 2006)

Li C, Liu, S & Berninger, F. (2004). Picea seedlings show apparent acclimation to drought with increasing altitude in the eastern Himalaya. *Trees* 18: 277-283.

Li C, Zhang X, Liu X, Luukkanen O, Berninger F (2005). Leaf morphological and physiological responses of Quercus aquifolioides along an altitudinal gradient. *Silva Fennica* 40(1): 5-13.

Lovett P N, Haq N (2000). Evidence for anthropic selection of the sheanut tree (*Vitellaria paradoxa*) *Agroforestry Systems*, 48: 273-278

Luikart G, et al. (2003) The power and promise of population genomics: from genotyping to genome typing. *Nature Review Genetics*, 4: 981-993.

Lynch M, Walsh B (1998). Genetics and analysis of quantitative traits. Sunderland, MA, USA: Sinauer associates.

- Maley J (1996). The African rain forest: main characteristics of changes in vegetation and climate from the upper Cretaceous to the Quaternary *In: Essays on the Ecology of the Guinea-Congo rain forest* IJ Alexander MD Swaine & R Watling eds, Proceedings Of The Royal Society Of Edinburgh, 104B, p 31-73
- Manly B J F (1997). Randomization, bootstrap and monte carlo methods in biology. Second Edition. Texts in statistical science, Chapman et hall, London, UK.
- Maranz S, Wiesman Z (2003a). Phenolic Constituents of Shea Kernels (*Vitellaria paradoxa*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51 (21): 6268-6273.
- Maranz S, Wiesman Z (2003b). Evidence for indigenous selection and distribution of the shea tree, *Vitellaria paradoxa* (Gaertner), and potential significance to prevailing parkland savanna tree patterns in Sub-Saharan Africa north of the equator. *Journal of Biogeography*, 30(10): 1505-1516.
- Maranz S, Wiesman Z, Bisgaard J, Bianchi G, (2004). Germplasm Resources of *Vitellaria paradoxa* Based on Variations in Fat Composition Across the Species Distribution Range. *Agroforestry Systems* 60: 71–76.
- Maranz S, Wiesman Z (2004) Effect of Climate on Tocopherols in Shea Butter. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52: 2934-2937.
- McKay J K, Latta R G (2002). Adaptive population divergence : markers, QTL and traits. *Trends in Ecology and Evolution*, 17, 285-291
- Morin P A, Luikart G, Wayne R K, et al., (2004). SNPs in ecology, evolution and conservation. *Trends in Ecology and Evolution*, 19 (4): 208-216.
- Moles A T, Ackerly D D, Webb C O, Tweddle J C, Dickie J B, Pitman A J, Westoby M (2005). Factors that shape seed mass evolution. *PNAS*, 102: 10540–10544.
www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.0501473102
- Murray B R, Brown A H D, Dickman C R, Crowther M S (2004). Geographical gradients in seed mass in relation to climate. *Journal of Biogeography*, 31: 379 –388 doi:10.1046/j.0305-0270.2003.00993.x
- Murren C J (2002). Phenotypic integration in plants. *Plant Species Biology*, 17: 89-99.
- Myburg Z, Camargo L, Bossinger G, Tuskan J, Grattapaglia D (2004). The International Eucalyptus Genome Consortium - I Eu GC - Draft Science (Technical) Plan. www.ieugc.up.ac.za (07/04)
- Myburg et al. (sous presse). Genome mapping and molecular breeding. Eucalyptus chapter. Volume V: forest trees, Fiber, Fodder and Forage Crops and Planation crops. In Chittarajan Editor.
- Namkoong G, Conkle MT (1976). Time trends in genetic control of height growth in ponderosa pine. *Forest Science*, 22: 2-12.
- Neale D B, Savolainen O (2004). Association genetics of complex traits in conifers. *Trends in Plant Science*, 9 : 325-330.
- Neale D et al (2005). Association studies in pines – the ADEPT2 project. Dans les actes du colloque IUFRO Tree biotechnology 2005. 6-11 novembre Pretoria, Afrique du Sud.
- Nevo E (2001) Evolution of genome-phenome diversity under environmental stress; *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 98 : 6233–6240
- Newton A C, Allnutt, Gillies A C M, Lowe A J, Ennos R A (1999). Molecular phylogeography, intraspecific variation and the conservation of tree species. *TREE* 14(4): 140-145.
- O'Neill C M, Gill S, Hobbs D, Morgan C, Bancroft I (2003). Natural variation for seed oil composition in *Arabidopsis thaliana*. *Phytochemistry* 64 (2003) 1077–1090

Orr HA (1998). The population genetics of adaptation: the distribution of factors fixed during adaptive evolution. *Evolution* 52:935–949

Oleksyn J, Modrzyński J, Tjoelker MG, Zytowskiak R, Reich PB, Karolewski P (1998). Growth and physiology of *Picea abies* populations from elevational transects: common garden evidence for altitudinal ecotypes and cold adaptation. *Functional Ecology* 12:573-590.

Parde J, Bouchon J (1988). *Dendrométrie*. 2nd. ed Nancy, France, ENGREF.

Patinot-Valera F, Kageyama P Y (1995). Parametros geneticos y espaciamiento en progenie de *Eucalyptus saligna* Smith. Research Paper IPEF, Piracicaba 48/49: 61-76.

Petit R J, Brewer S, Bordacs S, Burg K, Cheddadi R, Coart S, Cottrell J, Csai Kl UM, van Dam B, Deans J D, Espinel S, Fineschi S, Finkeldey R, Glaz I, Goicoechea P G, Jense J S n, König A O., Lowe A J., Flemming Madsen S, Ma'tya's G, Munro R C., Popescu F, Tabbener D S, H, de Vries S G M, Ziegenhagen Bt, de Beaulieu J-L, Kremer A (2002a) Identification of refugia and post-glacial colonisation routes of European white oaks based on chloroplast DNA and fossil pollen evidence. *Forest Ecology and Management*, 156: 49–74.

Petit R J, Csai Kl U M, Bordács S, Burg K, Coart Els, Cottrell J, van Dam B, Deans J D, Dumolin-Lapègue S, Fineschi S et al. (2002b). Chloroplast DNA variation in European white oaks: Phylogeography and patterns of diversity based on data from over 2600 populations. *Forest Ecology and Management*, 156: 5-26.

Pilate G, Dejardin A, Laurans F, Leple J C (2004). Tension wood as a model for functional genomics of wood formation. *New Phytologist* 164: 63–72.

Pierik R, Voesenek L A C J, de Kroon H, Visser E J W (2004). Density-Induced Plant Size Reduction and Size Inequalities in Ethylene-Sensing and Ethylene-Insensitive Tobacco. *Plant Biology*, 6: 201-205.

Pigliucci M (2003). Phenotypic integration: studying the ecology and evolution of complex phenotypes. *Ecology letters*, 6 : 265-272.

Pigliucci M, Preston K (2004). Studying the ecology and evolution of complex phenotypes. Oxford University press 437 p.

Plomion C, Richardson T, Mc Kay J (2005). Advances in forest tree genomics. *New Phytologist* 166: 713-717.

Plomion C, Bahrman N, Costa P, Dubos C, Frigerio J-M, Gion J-M, Lalanne C, Madur D, Pionneau C, Gerber S: Proteomics for genetic and physiological studies in forest trees (2004). application in maritime pine. In Molecular Genetics and Breeding of Forest Trees. Edited by Kumar S, Fladung M. New York: Food Products Press: 53-79.

Poke F S, Vaillancourt R E, Elliott R C, Reid J B (2003). Sequence variation in two lignin biosynthesis genes, cinnamoyl CoA reductase (CCR) and cinnamyl alcohol dehydrogenase 2 (CAD2). *Molecular Breeding*, 12: 107-118.

Poke F S (2004). Summary of the worldwide research in eucalypt genomics. Technical report Cooperative Research Centre for Sustainable Production Forestry, School of Plant Science, University of Tasmania, Private Bag 55, Hobart, Tasmania, 7001, Australia.
http://www.ieugc.up.ac.za/Genomic_survey_page.htm

Pot D, McMillan L, Echt C, Le Provost G, Garnier-Géré P, Cato S, Plomion C (2005). Nucleotide variation in genes involved in wood formation in two pine species. *New phytologist* doi:10.1111/j.1469-8137.2005.01417.x

- Potts B M, Jackson W D (1986). Evolutionary processes in the Tasmanian high altitude eucalypts. *In* Flora and Fauna of Alpine Australasia. Ages and Origins. ed. Barlow, B.A. pp. 511-527.
- Potts B M, Reid J B (1985). Variation in the *Eucalyptus gunnii-archeri* complex. II. The origin of variation. *Australian Journal of Botany* 33(5): 519-541. doi:10.1071/BT9850519.
- Preston K A, Ackerly D D (2003). Hydraulic architecture and the evolution of shoot allometry in contrasting climates. *American Journal of Botany*, 90: 1502-1512.
- Qiang W, Wang XL, Chen T, Feng HY, An LS, He YQ, Wang G (2003). Variation in stomatal density and carbon isotope values in *Picea crassifolia* at different altitudes in Qilian Mountains. *Trees*, 17: 28–262.
- Ranik M, Myburg A A (2006) Six new cellulose synthase genes from *Eucalyptus* are associated with primary and secondary cell wall biosynthesis. *Tree Physiology*, 26: 545–556.
- Ritland K (1996). A marker-based method for inferences about quantitative inheritance in natural population. *Evolution* 50, 1062-1073.
- Roupsard O (1997). Ecophysiologie et diversité génétique de *Faidherbia albida* (Del.) A. Chev. (syn *Acacia albida* Del.), un arbre à usages multiples d'Afrique semi aride. Thèse de l'Université H. Poincaré de Nancy I.
- Salzmann U, Waller M (1998). The Holocene vegetational history of Nigerian Sahel based on multiple pollen profiles *Review of Paleobotany and Palynology*, 100: 39-72.
- Sanhueza R P, White T L, Huber D A, Griffin A R (2002). Genetic parameters estimates, selection indices and predicted genetic gains from selection of *Eucalyptus globulus* in Chile. *Forest Genetics*, 9: 19-29.
- Sanou H , Lovett P N, **Bouvet J-M** (2005). A comparison of quantitative and molecular variation in agroforestry populations of the shea tree (*Vitellaria paradoxa* C.F Gaertn) in Mali. *Molecular Ecology*, 14: 2601-2610.
- Sanou H, Picard N, Lovett P N , Dembélé M, Korbo A, Diarisso D, **Bouvet J-M** (2006). Phenotypic variation of agromorphological traits of the shea tree, *Vitellaria paradoxa* C.F Gaertn, in Mali. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 53: 145-161. DOI: 10.1007/s10722-004-1809-9
- Santamaría L, Figuerola J, Pilon JJ, Mjelde M, Green AJ, de Boer T, King RA, Gornall R (2003) Plant performance across latitude: the role of plasticity and local adaptation in an aquatic plant. *Ecology*, **84**, 1454–1461.
- Santiago C, González-Martínez, Krutovsky K V, and Neale David B (2006). Forest-tree population genomics and adaptive evolution. *New Phytologist*, 170(2) : 227-238
- Schlichting C D, Pigliucci M (1998). Phenotypic Evolution: a reaction norm perspective. Sunderland, MA, USA, Sinauer Associates.
- Schlichting C et Smith H (2002). Phenotypic plasticity : linking molecular mechanisms with evolutionary outcomes. *Evolutionary Ecology*, 16: 189-211.
- Schlötterer C (2002). Towards a molecular characterization of adaptation in local populations. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 12: 683–687
- Sewel M M, Neale D B (2000). Mapping quantitative traits in forest trees. In *Molecular Biology of Woody Plants*, vol 1, Jain SM, Minocha SC. (eds). Kluwer Academic: Dordrecht; 407–424.
- Shaw M J, Potts B M, Reid J B (1984). Variation within and between *Eucalyptus nitida* Hook.F. and *E. coccoifera* Hook.F. *Australian Journal of Botany* 32(6): 641-654. doi: 10.1071/BT9840641.

Southerton S G, Strauss S H, Olive M R, Harcourt R L, Decroocq V, Zhu X M, Llewellyn D J, Peacock W J, Dennis ES (1998) Eucalyptus has a functional equivalent of the Arabidopsis floral meristem identity gene LEAFY. *Plant Molecular Biology* 37(6): 897-910

Specht R L (1996). The influence of soil on the evolution of eucalypts. In P. M. Attiwill and M. A. Adams [eds.] *Nutrition of Eucalypts*. CSIRO publishing, Canberra Australia.

Spittlehouse D L, Stewart R B (2003). Adaptation to climate change in forest management. *BC journals of Ecosystems management*, 4 : 9-11.

Stevenson J, Dobson J R, Prosser I P (2001). A late quaternary record of environmental change and human impact from New Caledonia. *Palaeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, **168**: 97-123.

Storz JF (2005). Using genome scans of DNA polymorphism to infer adaptive population divergence. *Molecular Ecology*, 14: 671-688.

Susko D J, Lovett-Doust L (2000). Patterns of seed mass variation and their effects on seedling traits in *Alliaria petiolata* (Brassicaceae). *American Journal of Botany*, 87: 56-66.

Tajima F (1989). Statistical method for testing neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics*, 123: 585-595.

Thamarus K A, Groom K, Murrell J, Byrne M, Moran G F (2002). genetic linkage map for *Eucalyptus globulus* with candidate loci for wood, fibre and floral traits, *Theoretical and Applied Genetics*, 104: 379-387.

Thumma B R, Nolan M F, Evans R, Moran G F (2005). Polymorphism in Cinnomoyl CoA Reductase (CCR) are associated with variation in microfibril in Eucalyptus spp. 10.1534/genetics.105.042028

Tripiana V, Bourgeois M, Verhaegen D, Vigneron P, **Bouvet J-M**. Combining microsatellites, growth and adaptive traits for managing *in situ* genetic resources of *Eucalyptus urophylla*. Soumis à Canadian Journal of Forestry Research novembre 2005)

van Tienderen P H, et al. (2002) Biodiversity assessment using markers for ecologically important traits. *Trends Ecology and Evolution*, 17: 577-582

van Welzen P C, Turner U, Hovenkamp P (2003). Historical biogeography of Southeast Asia and the West Pacific, or the generality of unrooted area networks as historical biogeographic hypotheses. *Journal of Biogeography*, 30: 181-192.

Verhaegen D, Plomion C (1996). Genetic mapping in Eucalyptus urophylla and Eucalyptus grandis using RAPD markers. *Genome*, 39: 1051-1061

Verhaegen D, Plomion C, Gion J-M, Poitel M, Costa P, Kremer A. (1997). Quantitative trait dissection analysis in *Eucalyptus* using RAPD markers: 1. Detection of QTL in interspecific hybrid progeny, stability of QTL expression across different ages. *Theoretical and Applied Genetics*, 95: 597-608.

Verhaegen D, Gion J-M, Plomion C, **Bouvet J-M**, Poitel M (1997). Quantitative trait dissection analysis in *Eucalyptus grandis* using RAPD markers : QTL detection of wood density and stability of QTL expression across different ages. Proceedings du Congrès IUFRO «Conference on Silviculture and Improvement of Eucalypts» 24-29 août 1997, Salvador, Brésil, 149-155.

Vigneron P, Gérard J, **Bouvet J-M** (1995). Relationship between Basic Density and Growth in a Fertilization Trial with clones of *Eucalyptus* hybrids in Congo. Proceedings de la conférence CRCTHF-IUFRO : Eucalypt plantation : improving fibre yield and quality. Hobart, Australia 19-24 February 1995, pp. 68-71.

Vigneron Ph, Saya A (2006) Synthèse critique sur le programme d'amélioration génétique des eucalyptus du Congo. Note technique Ur2pi. 36p.

Volker P W (1995). Evaluation of *Eucalyptus nitens**globules for commercial forestry. Proceedings de la conférence CRCTHF-IUFRO : Eucalypt plantation : improving fibre yield and quality. Hobart, Australia 19-24 February 1995, pp. 222-225.

Watson J M, Brill E M (2004). *Eucalyptus grandis* has at least two functional SOC1-like floral activator genes. *Functional Plant Biology*, 31(3): 225 - 234

Weiner J, Thomas SC. (1992). Competition and allometry in three species of annual plants. *Ecology*, 73: 648-656.

Williams G C (1966). Adaptation and natural selection. Princeton University Press, Princeton.

Wright S I, Gaut B S (2004). Molecular population genetics and the search for adaptive evolution in plants. *Molecular Biology and Evolution*, 22: 506-519.

Wu R, Stettler RF (1998). Quantitative genetics of growth and development in *Populus*. III. Phenotypic plasticity of crown structure and function. *Heredity* 81: 299-310.

Zobel B, Talbert J (1984). *Applied forest tree improvement*.. New York, USA, John Wiley and Sons

